



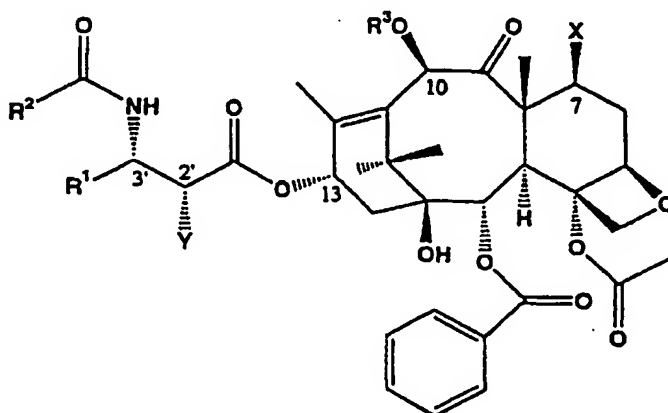
PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類7 C07D 305/14, A61K 31/337, A61P 19/08		A1	(11) 国際公開番号 WO00/53592
			(43) 国際公開日 2000年9月14日(14.09.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP00/01334		(74) 代理人 吉岡正志(YOSHIOKA, Masashi) 〒107-0052 東京都港区赤坂1丁目3番5号 赤坂アビタシオンビル3階 Tokyo, (JP)	
(22) 国際出願日 2000年3月6日(06.03.00)			
(30) 優先権データ 特願平11/59415 1999年3月5日(05.03.99) JP			
(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 旭化成工業株式会社 (ASAHI KASEI KOGYO KABUSHIKI KAISHA)[JP/JP] 〒530-8205 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号 Osaka, (JP)		(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)	
(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 石津谷俊則(ISHIZUYA, Toshinori)[JP/JP] 〒410-2114 静岡県田方郡菰山町南条621-1-205 Shizuoka, (JP) 生田俊一(IKUTA, Shunichi)[JP/JP] 〒416-0945 静岡県富士市宮島637-11 Shizuoka, (JP) 鵜澤豊暢(UZAWA, Toyonobu)[JP/JP] 〒410-2503 静岡県田方郡中伊豆町城767-24 Shizuoka, (JP) 堀 正幸(HORI, Masayuki)[JP/JP] 〒420-0911 静岡県静岡市瀬名3-3-1 Shizuoka, (JP)		添付公開書類 国際調査報告書	

(54)Title: OSTEOGENESIS PROMOTERS

(54)発明の名称 骨形成促進剤

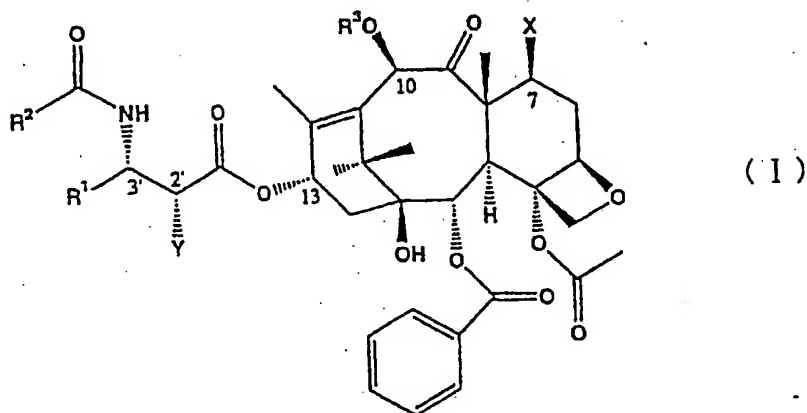


(57) Abstract

Osteogenesis promoters containing taxoids represented by general formula (I) in amounts effective for osteogenesis: wherein X and Y are each independently hydroxyl or a group convertible into hydroxyl *in vivo*; R¹ is alkyl, alkenyl, alkynyl, phenyl, naphthyl, furyl, or thienyl; R² is alkyl, phenyl, naphthyl, furyl, thienyl, alkoxy, or alkylamino; and R³ is hydrogen, alkyl, alkylcarbonyl, benzoyl, naphthoyl, furyl, thenoyl, alkoxycarbonyl, or dialkylcarbonyl.

(57)要約

骨形成に有効な量の、下記式(1)



(式中、XおよびYは、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基、R1はアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基又はチエニル基、R2はアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、アルコキシ基又はアルキルアミノ基、R3は水素原子、あるいはアルキル基、アルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、アルコキシカルボニル基又はアルキル基2個を有するジアルキルカルバモイル基)で表されるタキソイドを含有してなる骨形成促進剤。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦
AG アンティグア・バーブーダ
AL アルバニア
AM アルメニア
AT オーストリア
AU オーストラリア
AZ アゼルバイジャン
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ
BB バルバドス
BE ベルギー
BF ブルキナ・ファソ
BG ブルガリア
BJ ベナン
BR ブラジル
BY ベラルーシ
CA カナダ
CF 中央アフリカ
CG コンゴ
CH スイス
CI コートジボアール
CM カメルーン
CN 中国
CR コスタ・リカ
CU キューバ
CY キプロス
CZ チェッコ
DE ドイツ
DK デンマーク

DM ドミニカ
DZ アルジェリア
EE エストニア
ES スペイン
FI フィンランド
FR フランス
GA ガボン
GB 英国
GD グレナダ
GE グルジア
GH ガーナ
GM ガンビア
GN ギニア
GR ギリシャ
GW ギニア・ビサウ
HR クロアチア
HU ハンガリー
ID インドネシア
IE アイルランド
IL イスラエル
IN インド
IS アイスランド
IT イタリア
JP 日本
KE ケニア
KG キルギスタン
KP 北朝鮮
KR 韓国

KZ カザフスタン
LC セントルシア
LI リヒテンシュタイン
LK スリ・ランカ
LR リベリア
LS レソト
LT リトアニア
LU ルクセンブルグ
LV ラトヴィア
MA モロッコ
MC モナコ
MD モルドヴァ
MG マダガスカル
MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
MX メキシコ
MZ モザンビーク
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノールウェー
NZ ニュージーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア

RU ロシア
SD スーダン
SE スウェーデン
SG シンガポール
SI スロヴェニア
SK スロヴァキア
SL シエラ・レオネ
SN セネガル
SZ スワジランド
TD チャード
TG トーゴ
TJ タジキスタン
TM トルクメニスタン
TR トルコ
TT トリニダード・トバゴ
TZ タンザニア
UA ウクライナ
UG ウガンダ
US 米国
UZ ウズベキスタン
VN ヴェトナム
YU ユーゴスラヴィア
ZA 南アフリカ共和国
ZW ジンバブエ

明 細 書

骨形成促進剤

技術分野

本発明は、骨形成促進剤に関する。更に詳細には、本発明は、特定のタキソイドを有効成分として含有してなる骨形成促進剤に関する。また本発明は、特定のタキソイドを有効成分として含有してなる骨形成促進剤を、骨不全を有する患者に投与することを含む、骨形成を促進する方法に関する。本発明の骨形成促進剤を用いると、骨欠損部における骨形成が著しく促進されるので、骨折の治療、外科的骨削除による骨欠損部の治療、骨疾患の予防などにおいて極めて有効である。更に、本発明は、骨形成促進剤の有効成分として有効な新規なタキソイドに関する。

従来技術

骨折は、種々の原因によりあらゆる年齢層のヒトにおいて生じうる障害である。その上、骨折の治癒には比較的長期間を要する。特に、複雑骨折による骨欠損は、極めて長期に及ぶ治癒期間を必要とし、完治不能な場合もある。このように、骨折は患者の日常生活に重大な支障をきたす。従って、骨折患者を早期に離床させることは、患者の予後、QOL (Quality

of Life) など様々な点できわめて重要な課題である。

また、高齢者が骨折による長期臥床を余儀なくされた場合、不働性骨萎縮の併発により、易骨折性が加速度的に高まる。加えて、骨折した高齢者は痴呆等の内科的合併症を伴う頻度が高いため、寝たきりになる可能性が非常に高い。こうしたことから、近年の高齢者の増加に伴い、高齢者の骨折が社会的にも経済的にも重大な問題となりつつある。

以上のような理由から、外科医療、特に骨折治療の分野において、骨折の治療や、骨欠損部の修復促進に適応可能な、優れた骨形成促進剤が強く求められている。

骨折の治癒は局所で生じる現象である。このとき、骨折部位の状態が、炎症惹起、仮骨形成、リモデリングというステップを経て、経時的に変化していくことが知られている。

また生体内においては、骨折が生じた際に、骨形成を促進する作用を示す種々の因子が産生され、上記のそれぞれのステップにおいて、それらの因子が骨折部位において局所的に作用を示し、骨折の治癒を促すことが知られている。

このような因子（以降「骨形成促進因子」と称する）としては、骨形態誘導因子（Bone Morphogenic Protein、BMP）（*J. Bone Miner. Res.*, 13, 1483-1490, 1998）、線維芽細胞増殖因子（Fibroblast Growth Factor、FGF）（*Endocrinology*, 135, 774-781, 1998）、トランスフォーミング成長因子（Transforming Growth Factor- β 、TGF- β ）

(*Acta Orthopaedica Scandinavica*, 64, 553-556, 1993) などが知られており、動物実験でもその作用が証明されている。

これらの骨形成促進因子は、いずれも分子量が5000以上のペプチドあるいはタンパク質である。換言すれば、これらの骨形成促進因子は、いずれもペプチド性生理活性物質である。一般に、ペプチド性生理活性物質は生体内において速やかに代謝され、失活してしまうので、骨折の治療を目的として、上記骨形成促進因子をそのまま患者に投与しても、十分な効果は得られない。

また、一般にペプチド性生理活性物質は化学的安定性に乏しい。この問題を解決するため、有効成分であるペプチド性生理活性物質の安定化を試みた製剤が種々報告されているが、臨床での応用において満足できる品質のものは未だ得られていない。

一方、ペプチド性生理活性物質ではない、分子量の低い化合物の中にも、骨形成を促進する作用を示す物質が知られている。そのような物質としては、プロスタグランディン類 (*Bone and Mineral*, 3, 27-34, 1987)、ビタミンD₃誘導体 (*Clinical Science*, 65, 429-436, 1983)、ベンジルホスホン酸誘導体、フェノールスルホフタレン誘導体等が報告されている。しかし、これらの物質を有効成分として用いた骨形成促進剤についても、骨折や骨欠損の治癒の促進に関して十分な効果があるという報告はない。

このほか、いわゆる骨代謝に影響を及ぼす物質としては、従来卵巣癌等の癌に対する抗癌剤や、リウマチの治療薬として用いられているパクリタクセル（タキソール）（「タキソール」は米国ブリストル・マイヤーズ・スクイブ株式会社に製造・販売されているパクリタクセルの商品名である。）も、骨吸収抑制作用及び破骨細胞抑制作用を示すことが知られている（米国特許第 5、583、153 号及び *Calcified Tissue International*, 57, 463-465, 1995）。

生理的な状態においては、骨芽細胞による骨形成と、破骨細胞による骨吸収のバランスが維持された状態にあり、このことによって骨量がほぼ一定に保たれている。何らかの理由により骨吸収が抑制されれば、このバランスが崩れ、骨量が増加する。従って理論的には、骨吸収抑制作用を示す物質を投与すると、骨形成の促進は実際には起こらないが、骨量が増加し、見かけ上骨形成が促進された場合と同等の結果が得られることになる。

しかしながら実際には、骨吸収抑制作用を示す物質の投与によって、骨形成が抑制される場合が多い。例えば、骨吸収抑制作用を示すことが知られているビスフォスフォネートは、骨折の治癒を抑制することが知られている（*J. Bone Miner. Res.* 14, 1999）。

パクリタクセルおよびその類縁化合物の骨形成促進作用に関してはまだ報告がなく、従って骨吸収抑制作用を有す

るパクリタクセルやその類縁化合物の投与により、実際に骨形成が促進されるか否かについては知られていなかった。

以上から明らかなように、化学的に安定であり、且つ強力な骨形成促進作用を有する物質を有効成分として含有し、骨折の治療のみならず、骨欠損部の修復促進にも適応可能な骨形成促進剤は、今日まで得られていなかった。

発明の概要

かかる状況下において、本発明者らは、上記の課題を解決し、化学的に安定であり、且つ強力な骨形成促進作用を有する低分子量の化合物を有効成分として含有し、骨折の治療のみならず、骨欠損部の修復促進にも適応可能な骨形成促進剤を開発すべく、鋭意研究を行った。その結果意外にも、後述する式（I）で表わされる特定のタキソイドが、強力な骨形成促進作用を有することを見出した。更に、式（I）で表わされる特定のタキソイドを有効成分として含有する医薬組成物（即ち骨形成促進剤）を用いると、骨形成が著しく促進されるので、骨折の治療、外科的骨削除による骨欠損部の治療、骨疾患の予防などにおいて極めて有効であることを見出し、本発明を完成するに至った。

従って、本発明の主たる目的は、化学的に安定であり、且つ強力な骨形成促進作用を有する低分子量の化合物である、式（I）で表わされる特定のタキソイドを有効成分として含

有し、骨折の治療のみならず、骨欠損部の修復促進にも適応可能な骨形成促進剤を提供することにある。

本発明の他の1つの目的は、上記骨形成促進剤を骨不全を有する患者に投与することを含む、骨形成を促進する方法を提供することにある。

本発明の更に他の1つの目的は、上記骨形成促進剤の有効成分である、式(I)で表わされる特定のタキソイドを提供することにある。

本発明の上記及び他の諸目的、諸特徴ならびに諸利益は、添付の図面を参照しながら述べる次の詳細な説明及び請求の範囲から明らかになる。

図面の簡単な説明

図面において、

図1は、実施例1で製造した化合物AZ42005の ^1H -NMRスペクトルを示し、

図2は、実施例2で製造した化合物AZ42018の ^1H -NMRスペクトルを示し、

図3は、実施例3で製造した化合物AZ42009の ^1H -NMRスペクトルを示し、

図4は、実施例4で製造した化合物AZ42010の ^1H -NMRスペクトルを示し、

図5は、実施例5で製造した化合物AZ42020の ^1H

— N M R スペクトルを示し、

図 6 は、実施例 6 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 1 の ^1H

— N M R スペクトルを示し、

図 7 は、実施例 7 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 2 の ^1H

— N M R スペクトルを示し、

図 8 は、実施例 8 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 3 の ^1H

— N M R スペクトルを示し、

図 9 は、実施例 9 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 4 の ^1H

— N M R スペクトルを示し、

図 1 0 は、実施例 1 0 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 5 の
 ^1H — N M R スペクトルを示し、

図 1 1 は、実施例 1 1 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 6 の
 ^1H — N M R スペクトルを示し、

図 1 2 は、実施例 1 2 で製造した化合物 A Z 4 2 0 2 7 の
 ^1H — N M R スペクトルを示し、

図 1 3 は、ラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞における、バ
クリタクセルの A L P 活性促進作用を示す図であり、図中の
—○— は A L P 活性を示し；

図 1 4 は、ラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞における、バ
クリタクセルの細胞層中カルシウム量増加作用および骨様結
節形成促進作用を示す図であり、図中の —●— はカルシウム
量、—□— は骨様結節数をそれぞれ示し；

図 1 5 は、バクリタクセル無添加群における、培養 7 日目

のラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の顕微鏡写真（40倍）を示す図であり；

図16は、パクリタクセル濃度0.3 ng/ml添加群における、培養7日目のラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の顕微鏡写真（40倍）を示す図であり；

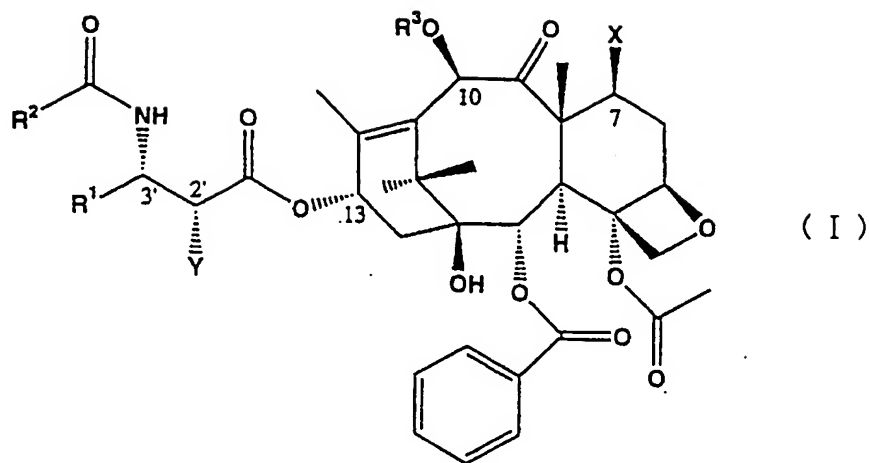
図17は、パクリタクセル濃度1 ng/ml添加群における、培養7日目のラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の顕微鏡写真（40倍）を示す図であり；

図18は、パクリタクセル濃度3 ng/ml添加群における、培養7日目のラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の顕微鏡写真（40倍）を示す図であり；そして

図19は、ラット骨芽細胞における、パクリタクセルの骨様結節形成促進作用を示す図であり、図中の—○—はパクリタクセル1 ng/ml、—●—はパクリタクセル3 ng/ml、—△—はパクリタクセル10 ng/ml添加群のそれぞれで形成された骨様結節数を示し、また斜線部は溶媒群で形成された骨様結節数を示す。

発明の詳細な説明

本発明の1つの態様によれば、骨形成に有効な量の、下記式（I）



(式中、XおよびYは同一であっても異なってもよく、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基であり；

R^1 は炭素数1～6のアルキル基、炭素数2～6のアルケニル基、炭素数2～6のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 は炭素数1～6のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数1～10のアルコキシ基および炭素数1～6のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり；そして

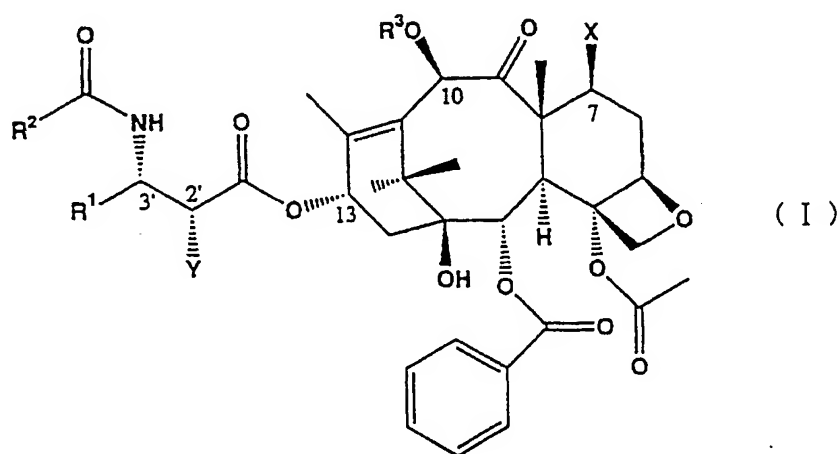
R^3 は水素原子、あるいは炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、

テノイル基、炭素数 1 ～ 6 のアルコキシカルボニル基
 および炭素数 1 ～ 3 のアルキル基 2 個を有し、該アル
 キル基が同一であっても異なってもよいジアルキ
 ルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基を示す)

で表される少なくとも 1 種のタキソイド、および
 薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤
 を含有してなる骨形成促進剤が提供される。

次に本発明の理解を容易にするために、まず本発明の基本
 的特徴及び好ましい態様を列挙する。

1. 骨形成に有効な量の、下記式 (I)



(式中、X および Y は、各々独立に、水酸基または生
 体内で水酸基に変換され得る基であり；

R¹ は炭素数 1 ～ 6 のアルキル基、炭素数 2 ～ 6 の

アルケニル基、炭素数 2 ～ 6 のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 は炭素数 1 ～ 6 のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数 1 ～ 10 のアルコキシ基および炭素数 1 ～ 6 のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり；そして

R^3 は水素原子、あるいは炭素数 1 ～ 6 のアルキル基、炭素数 1 ～ 6 のアルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、炭素数 1 ～ 6 のアルコキシカルボニル基および炭素数 1 ～ 3 のアルキル基 2 個を有し、該アルキル基が同一であっても異なってもよいジアルキルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基を示す。）

で表される少なくとも 1 種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤。

2. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) において、

R^1 が、イソブチル基、イソプロピル基、tert-ブチル基、シクロプロピル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-プロペニル基、シス-2-ブテニル基およびフェニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 がベンチル基、2, 2-ジメチルプロピル基、フェニル基、3-フリル基、ベンジルオキシ基、tert-ブトキシ基、tert-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、アダマンチルオキシ基およびtert-ブチルアミノよりなる群から選ばれる基であり；そして

R^3 が水素原子、あるいはメチル基、アセチル基、ベンゾイル基、ブタノイル基、メトキシカルボニル基およびN, N-ジメチルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基であることを特徴とする、前項1に記載の骨形成促進剤。

3. 該少なくとも1種のタキソイド(I)が、

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が2-メチル-1-プロペニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-イソブチルドセタクセル；

ル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が2-メチル-1-プロペニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がシス-2-ブテニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がN,N-ジメチルカルバモイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-(N,N-ジメチルカルバモイル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルオキシ基であり、R³がベンゾイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ベンゾイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基

であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がブタノイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-オ-ブタノイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がメトキシカルボニル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-オ-メトキシカルボニルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がtert-ブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-tert-ブチル-10-オ-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がシクロプロピル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-シクロプロピル-10-オ-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソプロピル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソプロピル-10-オ-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が3-ペンチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10-オ-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-アミルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がイソプロポキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-イソプロポキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がベンジルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-ベンジルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がアダマンチルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-アダマンチルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²が2,2-ジメチルプロピル基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-(3,3-ジメチルブタノイル)-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がペンチル基であり、 R^3 がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-ヘキサノイル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブチルアミノ基であり、 R^3 がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-tert-ブチルアミノカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 が3-フリル基であり、 R^3 がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-(3-フロイル)-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がフェニル基であり、 R^2 がフェニル基であり、 R^3 がアセチル基である、
パクリタクセル；および

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がフェニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、
ドセタクセル

よりなる群から選ばれることを特徴とする、前項1または2に記載の骨形成促進剤。

4. 該少なくとも1種のタキソイド(I)において、Xおよ

びYの少なくとも1つとして規定されている上記の生体内で水酸基に変換され得る基が、親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基であることを特徴とする、前項1または2に記載の骨形成促進剤。

5. 上記の親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基が、下記の基：

$-O-CO-(CH_2)_n-NR^4R^5$ およびその塩、

$-O-CO-(CH_2)_n-COOH$ およびその塩、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-OH$ 、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2NR^4$ およびその塩、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2O$ およびその塩、および

アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンよりなる群から選ばれるアミノ酸に由来するアシルオキシ基およびその塩

(式中、 R^4 および R^5 は、各々独立に、水素原子または炭素数1～6のアルキル基を示し、

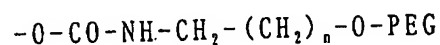
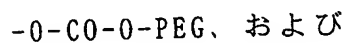
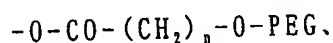
n は1～4の整数を示す)

よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、前項 4 に記載の骨形成促進剤。

6. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) において、X および Y の少なくとも 1 つとして規定されている上記の生体内で水酸基に変換され得る基が、親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基であることを特徴とする、前項 1 または 2 に記載の骨形成促進剤。

7. 上記の親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基が、下記の基：



(式中、n は 1 ~ 4 の整数を示し、

PEG は 1 価のポリエチレングリコール残基を示す)

よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、前項 6 に記載の骨形成促進剤。

8. 骨折の治療に用いられることを特徴とする、前項 1 ~ 7 のいずれかに記載の骨形成促進剤。

9. 外科的骨削除による骨欠損部の治療に用いられることを特徴とする、前項1～7のいずれかに記載の骨形成促進剤。

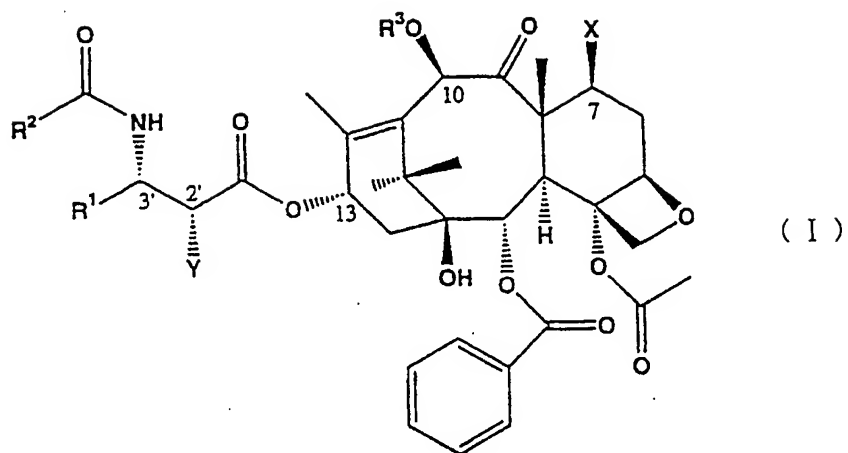
10. 該外科的骨削除が、偽関節症の治療、脊椎固定術、人工関節置換術、骨切り術、骨延長術、骨補填術、歯科インプラント移植術、歯周病の治療のいずれかを目的として行なわれるものであることを特徴とする、前項9に記載の骨形成促進剤。

11. 局所投与用製剤であることを特徴とする、前項1～10のいずれかに記載の骨形成促進剤。

12. 注射剤、固形製剤、懸濁剤または軟膏剤であることを特徴とする、前項11に記載の骨形成促進剤。

13. 成人の患者に対する1回の投与あたりの投与量が、体重50kgあたり、該少なくとも1種のタキソイドの量として1ng～50mgとなるよう処方されていることを特徴とする、前項1～12のいずれかに記載の骨形成促進剤。

14. 下記式(I)



(式中、XおよびYは水酸基であり；

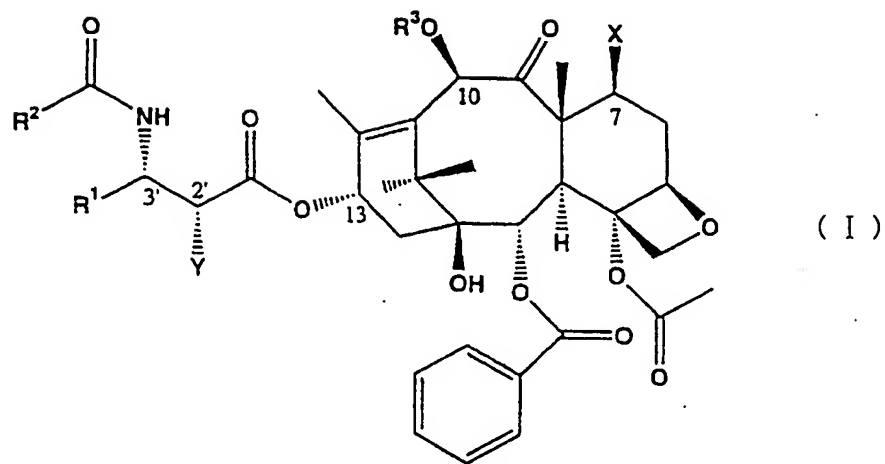
R¹はイソブチル基であり；

R²はtert-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、ベンジルオキシ基、アダマンチルオキシ基、2,2-ジメチルプロピル基、ペンチル基、tert-ブチルアミノ基及び3-フリル基よりなる群から選ばれる基であり；

R³はアセチル基である)

で表されるタキソイド。

15. 下記式 (I)



(式中、XおよびYは水酸基であり；

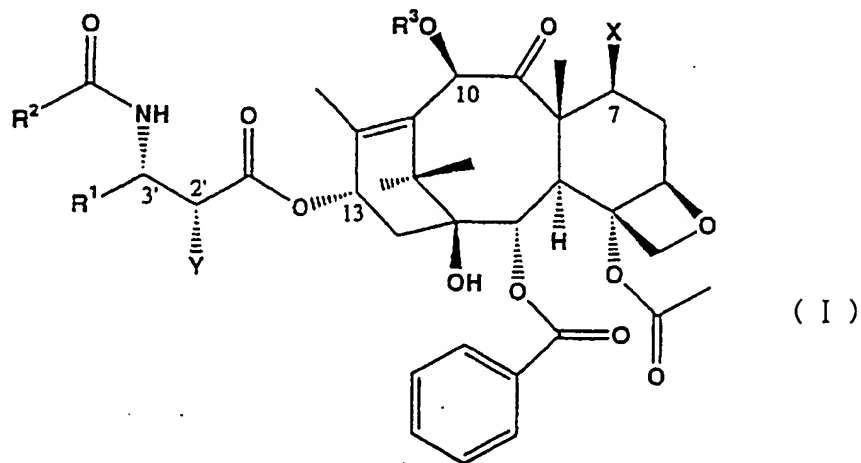
R¹はシス-2-ブテニル基または3-ペンチル基であり；

R²はtert-ブトキシ基であり；

R³はアセチル基である)

で表されるタキソイド。

16. 下記式(1)



(式中、XおよびYは水酸基であり；

R¹はイソブチル基であり；

R²はtert-ブトキシ基であり；

R³はベンゾイル基またはブタノイル基である)

で表されるタキソイド。

17. 骨形成に有効な量の、前項14に記載の少なくとも1種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤。

18. 骨形成に有効な量の、前項15に記載の少なくとも1種のタキソイド、および

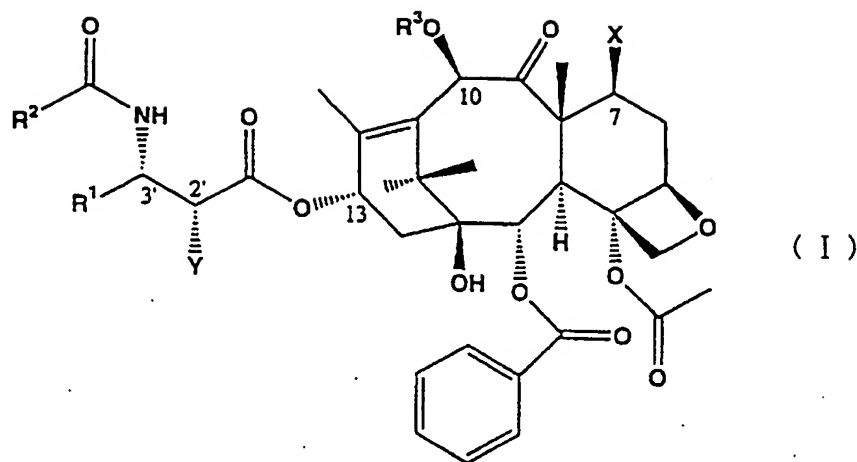
薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤。

19. 骨形成に有効な量の、前項16に記載の少なくとも1種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤。

20. 下記式(I)

23



(式中、XおよびYは、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基であり；

R¹は炭素数1～6のアルキル基、炭素数2～6のアルケニル基、炭素数2～6のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R²は炭素数1～6のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数1～10のアルキル基を有するアルコキシ基および炭素数1～6のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり；そして

R³は水素原子、あるいは炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、炭素数1～6のアルコキシカルボニル基および炭素数1～3のアルキル基2個を有し、該アルキル基が同一であ

っても異なっているいてもよいジアルキルカルバモイル基
よりなる群から選ばれる基を示す)

で表される少なくとも1種のタキソイドの骨形成に有効な量を、骨不全を有する患者に投与することを含む、骨形成を促進する方法。

21. 該少なくとも1種のタキソイド(I)を、該少なくとも1種のタキソイド(I)および薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤の形で投与することを特徴とする、前項20に記載の方法。

22. 該少なくとも1種のタキソイド(I)において、

R¹が、イソブチル基、イソプロピル基、tert-ブチル基、シクロプロピル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-プロペニル基、シス-2-ブテニル基およびフェニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R²がペンチル基、2, 2-ジメチルプロピル基、フェニル基、3-フリル基、ベンジルオキシ基、tert-ブトキシ基、tert-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、アダマンチルオキシ基およびtert-ブチルアミノよりなる群から選ばれる基であり；

R³が水素原子、あるいはメチル基、アセチル基、ベンゾイル基、ブタノイル基、メトキシカルボニル基およびN, N

ージメチルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基であることを特徴とする、前項20または21に記載の方法。

23. 該少なくとも1種のタキソイド(I)が、

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が2-メチル-1-プロペニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-イソブチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が2-メチル-1-プロペニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がシス-2-ブテニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³

がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がN,N-ジメチルカルバモイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-(N,N-ジメチルカルバモイル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルオキシ基であり、R³がベンゾイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ベンゾイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がブタノイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ブタノイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメトキシカルボニル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メトキシカルボニルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がtert-ブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-tert-ブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がシクロプロピル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-シクロプロピル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソプロピル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソプロピル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が3-ペンチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-アミルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルバクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がイソプロポキシ基であり、R³がアセチル基で

ある、デ-N-ベンゾイル-N-イソプロポキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がベンジルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-ベンジルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がアダマンチルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-アダマンチルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²が2,2-ジメチルプロピル基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-(3,3-ジメチルブタノイル)-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がペンチル基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-ヘキサノイル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルアミノ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-tert-ブチル

アミノカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチル
パクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基
であり、R²が3-フリル基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-(3-フロイル)-3'-デスフ
ェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がフェニル基で
あり、R²がフェニル基であり、R³がアセチル基である、パ
クリタクセル；および

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がフェニル基で
あり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子で
ある、ドセタクセル

よりなる群から選ばれることを特徴とする、前項20～23
に記載の方法。

24. 該少なくとも1種のタキソイド(I)において、Xお
よびYの少なくとも1つとして規定されている上記の生体内
で水酸基に変換され得る基が、親水性低分子有機基が結合し
てなるカルボニルオキシ基であることを特徴とする、前項2
0～23に記載の方法。

25. 上記の親水性低分子有機基が結合してなるカルボニル
オキシ基が、下記の基：

$-O-CO-(CH_2)_n-NR^4R^5$ およびその塩、

$-O-CO-(CH_2)_n-COOH$ およびその塩、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-OH$ 、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2NR^4$ およびその塩、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2O$ およびその塩、および

アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンよりなる群から選ばれるアミノ酸に由来するアシルオキシ基およびその塩

(式中、 R^4 および R^5 は同一であっても異なってもよく、各々独立に、水素原子または炭素数 1 ~ 6 のアルキル基を示し、

n は 1 ~ 4 の整数を示す)

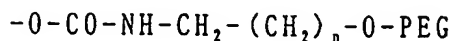
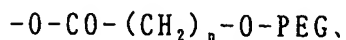
よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、前項 24 に記載の方法。

26. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) において、X および Y の少なくとも 1 つとして規定されている上記の生体内で水酸基に変換され得る基が、親水性高分子化合物を直接あ

るいは低分子スパーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基であることを特徴とする、前項20～22に記載の方法。

27. 上記の親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スパーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基が、下記の基：



(式中、 n は1～4の整数を示し、

PEGは1価のポリエチレングリコール残基を示す)

よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、前項25に記載の骨形成促進剤。

28. 骨折の治療を目的として行われることを特徴とする、前項20～27のいずれかに記載の方法。

29. 外科的骨削除による骨欠損部の治療を目的として行われることを特徴とする、前項20～27のいずれかに記載の方法。

30. 該外科的骨削除が、偽関節症の治療、脊椎固定術、人

工関節置換術、骨切り術、骨延長術、骨補填術、歯科インプラント移植術、歯周病の治療のいずれかを目的として行なわれるものであることを特徴とする、前項29に記載の方法。

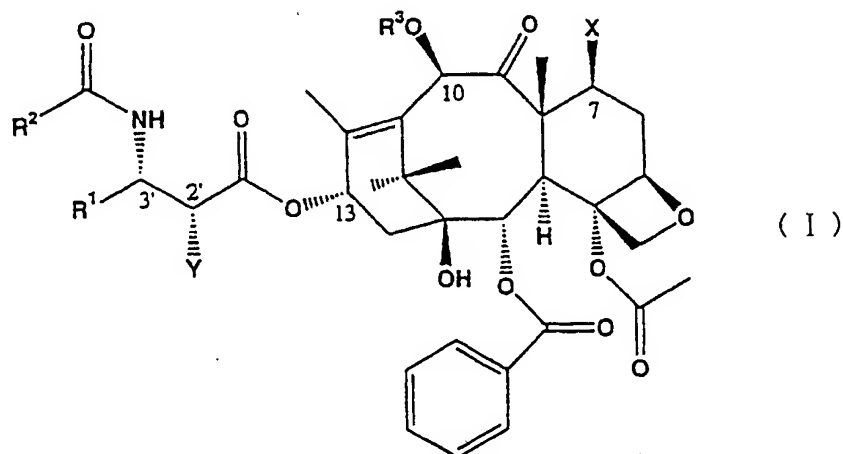
31. 該骨形成促進剤が局所投与用製剤であることを特徴とする、前項20～30のいずれかに記載の方法。

32. 該骨形成促進剤が注射剤、固形製剤、懸濁剤または軟膏剤であることを特徴とする、前項31に記載の方法。

33. 成人の患者に対し、該骨形成促進剤を、1回の投与あたり、体重50kgあたり該少なくとも1種のタキソイドの量として1ng～50mg投与することを特徴とする、前項20～32のいずれかに記載の方法。

以下、本発明について詳細に説明する。

本発明の骨形成促進剤は、骨形成に有効な量の、下記式(I)



(式中、XおよびYは同一であっても異なってもよく、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基であり；

R^1 は炭素数1～6のアルキル基、炭素数2～6のアルケニル基、炭素数2～6のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 は炭素数1～6のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数1～10のアルコキシ基および炭素数1～6のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり；

R^3 は水素原子、あるいは炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、炭素数1～6のアルコキシカルボニル基および炭素数1～3のアルキル基2個を有し、該アルキル基が同一であっても異なってもよいジアルキルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基を示す)

で表される少なくとも1種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有する。

本発明の骨形成促進剤において有効成分として用いられる、上記式(I)で表されるタキソイド(以降単に「タキソイド

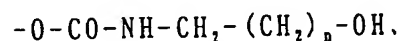
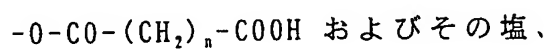
(I)」と称する)は骨形成促進作用を有する。このことは、後述するように、タキソイド(I)が、新生児ラット頭蓋冠由来の骨芽細胞様細胞に対し、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性促進作用、細胞層中のカルシウム量増加作用、骨様結節の形成促進作用などを示すことによって確認される。

タキソイド(I)において、XおよびYは、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基である。

本発明において「生体内で水酸基に変換され得る基」とは、酵素的または非酵素的な反応により、生体内において水酸基に変換され得る基を意味し、いわゆるプロドラッグに関する分野において数多くの例が知られているので、それらの基を適宜に用いることができる。

本発明においては、生体内で水酸基に変換され得る基として、親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基、または親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基を用いることが好ましい。

親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基の例としては種々の例が知られているが、本発明においては、特に下記の基：



$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2NR^4$ およびその塩、
 $-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2O$ およびその塩、および

アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンよりなる群から選ばれるアミノ酸に由来するアシルオキシ基およびその塩

(式中、 R^4 および R^5 は同一であっても異なってもよく、各々独立に、水素原子または炭素数 1 ~ 6 のアルキル基を示し、

n は 1 ~ 4 の整数を示す)

よりなる群から選ばれる基を用いることが好ましい。

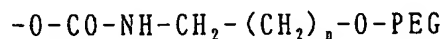
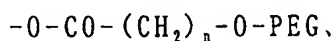
一方、親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合させたカルボニルオキシ基についても、種々の例が知られている。

親水性高分子化合物の例としては、デキストランなどの多糖、アルブミンなどのタンパク質、ポリエチレングリコール、ポリアクリル酸、ポリアクリルアミド、ポリリジン、ポリ乳酸などの合成高分子を挙げることができる。

また、上記の低分子スペーサーとは、上記タキソイド (I)

に結合し得る基と、上記親水性高分子化合物に結合し得る基を有する低分子量の化合物を意味し、その例としては、 α -アミノ酸、 β -アミノ酸、 γ -アミノ酸などのアミノ酸類およびそれらが複数個結合してなるペプチド、エタノールアミン、プロパノールアミンなどのアミノアルコール類、マロン酸、コハク酸、グルタル酸などのジカルボン酸類、エチレングリコール、プロピレングリコールなどのジオール類などを挙げることができ、タキソイド（I）と上記の親水性高分子化合物の種類に応じて適当なものを用いる。

本発明においては、親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合させたカルボニルオキシ基として、特に下記の基：



（式中、 n は 1 ～ 4 の整数を示し、

PEG は 1 価のポリエチレングリコール残基を示す）

よりなる群から選ばれる基を用いることが好ましい。

本発明において、 X および Y は、いずれも水酸基であることがより好ましい。

R^1 は、炭素数 1 ～ 6 のアルキル基、炭素数 2 ～ 6 のアルケニル基、炭素数 2 ～ 6 のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる

基であり、好ましくは、イソブチル基、イソプロピル基、*tert*-ブチル基、シクロプロピル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-プロペニル基、シス-2-ブテニル基およびフェニル基よりなる群から選ばれる基である。

R^2 は炭素数1~6のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数1~10のアルコキシ基および炭素数1~6のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり、好ましくは、ペンチル基、2,2-ジメチルプロピル基、フェニル基、3-フリル基、ベンジルオキシ基、*tert*-ブトキシ基、*tert*-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、アダマンチルオキシ基および*tert*-ブチルアミノよりなる群から選ばれる基である。

R^3 は、水素原子、あるいは炭素数1~6のアルキル基、炭素数1~6のアルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、炭素数1~6のアルコキシカルボニル基および炭素数1~3のアルキル基2個を有し、該アルキル基が同一であっても異なっているいてもよいジアルキルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基であり、好ましくは、水素原子、あるいはメチル基、アセチル基、ベンゾイル基、ブタノイル基、メトキシカルボニル基およびN,N-ジメチルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基である。

本発明においては、タキソイド(I)が、

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42001)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が2-メチル-1-プロペニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42002)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-イソブチルドセタクセル(AZ42003)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が2-メチル-1-プロペニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)ドセタクセル(AZ42004)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がシス-2-ブテニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42005)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がN,N-ジメチルカルバモイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-(N,N-ジメチルカルバモイル)ドセタクセル(AZ42007) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メチルドセタクセル(AZ42008) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルオキシ基であり、R³がベンゾイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ベンゾイルドセタクセル(AZ42009) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がブタノイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ブタノイルドセタクセル(AZ42010) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメトキシカルボニル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メトキシカルボニルドセタクセル(AZ42011) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がtert-ブ

チル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-tert-ブチル-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42012)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がシクロプロピル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-シクロプロピル-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42014)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソプロピル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソプロピル-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42016)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が3-ペンチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10-O-アセチルドセタクセル(AZ42018)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-アミルオキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル(AZ42020)；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がイソプロポキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-イソプロポキシカルボニル

－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42021）；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がベンジルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ－N－ベンゾイル－N－ベンジルオキシカルボニル－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42022）；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がアダマンチルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ－N－ベンゾイル－N－アダマンチルオキシカルボニル－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42023）；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²が2, 2－ジメチルプロピル基であり、R³がアセチル基である、デ－N－ベンゾイル－N－（3, 3－ジメチルブタノイル）－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42024）；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がペンチル基であり、R³がアセチル基である、デ－N－ベンゾイル－N－ヘキサノイル－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42025）；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert－ブチルアミノ基であり、R³がアセ

チル基である、 N -ベンゾイル- N -*tert*-ブチル
アミノカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチル
パクリタクセル (AZ 42026) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基
であり、 R^2 が3-フリル基であり、 R^3 がアセチル基である、
 N -ベンゾイル- N -(3-フロイル)-3'-デスフ
ェニル-3'-イソブチルパクリタクセル (AZ 4202
7) ;

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がフェニル基で
あり、 R^2 がフェニル基であり、 R^3 がアセチル基である、パ
クリタクセル ; および

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がフェニル基で
あり、 R^2 が*tert*-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子で
ある、ドセタクセル
よりなる群から選ばれることが好ましい。

本発明においては、上記の化合物のうち、タキソイド (I)
として、パクリタクセルまたはドセタクセルを用いることが
より好ましく、パクリタクセルを用いることが最も好ましい。

本発明において有効成分として用いられるタキソイド (I)
の製造方法は特に限定されない。

タキソイド (I) の一部、例えばパクリタクセルは、天然
の原料、例えばイチイ科樹木の樹皮に含まれていることが知
られているので、そのようなタキソイド (I) を天然の原料

から公知の手段、例えばクロマトグラフィーなどを組み合わせた方法により単離し、本発明の骨形成促進剤の有効成分として用いることができる。

その他の、天然の原料に含まれているものとは異なるタキソイド（I）は、化学的に合成することができる。

例えば、タキソイド（I）の具体例として先に列挙した化合物のうち、化合物AZ42001、AZ42002、AZ42003、AZ42004、AZ42007、AZ42008、AZ42011、AZ42012、AZ42014、AZ42016およびドセタクセルは公知であり、その製造方法は下記の文献に記載されている。

化合物AZ42001、AZ42002、AZ42003およびAZ42004は、Ojima et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 4, 2631-2934, 1994 の記載に基づいて合成することができる。

化合物AZ42007、AZ42008およびAZ42011は、Ojima et al., J. Med. Chem., 39, 3889-3896, 1996 の記載に基づいて合成することができる。

化合物AZ42012、AZ42014およびAZ42016は、日本国特表平8-508469号公報の記載に基づいて合成することができる。

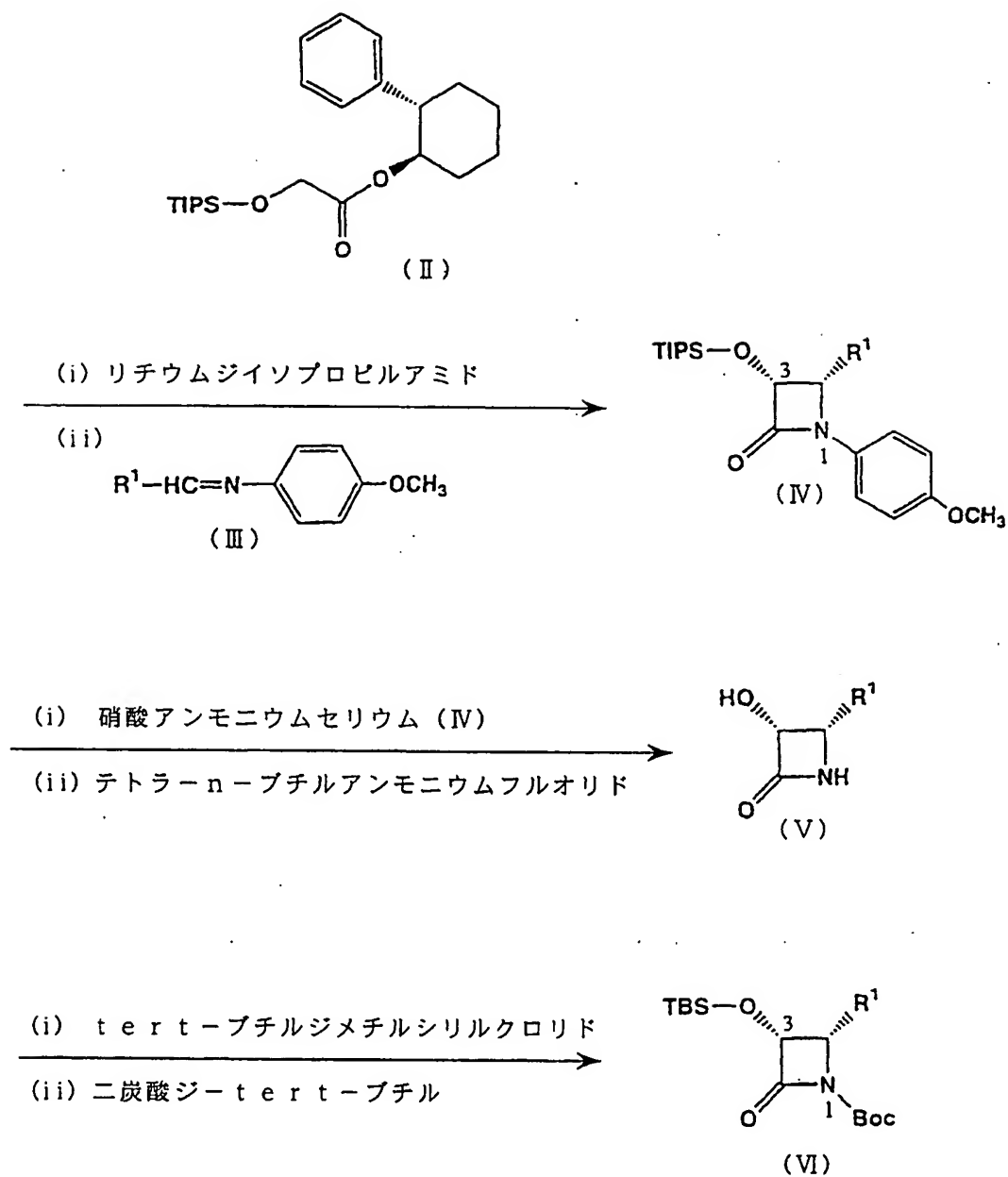
ドセタクセルは、Ojima et al., Tetrahedron Lett., 34, 4149-4152, 1993 の記載に基づいて合成することができる。

その他の化合物、即ち化合物 A Z 4 2 0 0 5、A Z 4 2 0 0 9、A Z 4 2 0 1 0、A Z 4 2 0 1 8、A Z 4 2 0 2 0、A Z 4 2 0 2 1、A Z 4 2 0 2 2、A Z 4 2 0 2 3、A Z 4 2 0 2 4、A Z 4 2 0 2 5、A Z 4 2 0 2 6、A Z 4 2 0 2 7 は新規化合物であるが、上記既知化合物の合成方法の他、公知の方法、例えば、Georg et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 4, 1825-1830; Georg et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 4, 335-338, 1994; Kant et al., Tetrahedron Lett., 35, 5543-5546, 1994; および Ojima et al., Tetrahedron, 48, 6985-7012, 1992 などに記載の方法を応用して合成することができる。

以降、本発明において有効成分として用いられるタキソイド (I) を製造する方法の一例につき、下記スキーム 1、2 および 3 を参照して説明する。

まず、 R^3 が水素原子でないタキソイド (I) の製造方法を説明する。下記スキーム 1、2 および 3 において、 R^1 、 R^2 および R^3 は上記式 (I) において定義したものと同じである。ただし、 R^3 は水素原子ではない。

<スキーム 1>



注: TIPS=トリイソプロピルシリル基

TBS=tert-ブチルジメチルシリル基

Boc=tert-ブトキシカルボニル基

アルデヒド R^1-CHO (R^1 は上記式 (I) において定義したものと同一である) を *p*-アニシジンと縮合させ、アルジミン (III) を得る (この反応は図示されていない)。

得られたアルジミン (III) を、リチウムジイソプロピルアミドの存在下、(–) – (1*R*, 2*S*) – 2-フェニル-1-シクロヘキシル トリイソプロピルシリルオキシアセテート (II) (Ojima et al.の方法で合成。Ojima et al., Tetrahedron, 48, 6985-7012, 1992) と反応させ、アゼチノン (IV) (化合物 (IV)) を得る。

次に、化合物 (IV) の1位 (窒素原子) に結合した *p*-メトキシフェニル基を *tert*-ブトキシカルボニル基 (以降 *Boc* 基と称する) に、化合物 (IV) の3位の炭素原子に結合した酸素原子に結合したトリイソプロピルシリル基 (以降 *TIPS* 基と称する) を *tert*-ブチルジメチルシリル基 (以降 *TBS* 基と称する) に交換する。この操作は、化合物 (IV) の1位および3位の保護基 (即ち、*p*-メトキシフェニル基と *TIPS* 基) を、後述するバカチン誘導体 (VII) との反応に適した保護基に交換するための操作である。また *p*-メトキシフェニル基を *Boc* 基に交換する操作は、本発明において有効成分として用いられるタキソイド (I) 中の R^2 として、*tert*-ブトキシ基を導入するための操作を兼ねている (R^2 が *tert*-ブトキシ基以外の基であるタキソイド (I) を得る方法については後述する)。

得られた化合物(IV)を硝酸二アンモニウムセリウム(IV)と反応させることにより、化合物(IV)の1位(窒素原子)に結合したp-メトキシフェニル基を除去して、1位が脱保護されたアゼチジノン(IV') (化合物(IV')) (図示せず)を得る。

得られた化合物(IV')をテトラ-n-ブチルアンモニウムフルオリド(以降 $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ と称する)と反応させることにより、化合物(IV')の3位に結合した酸素原子に結合したTIPS基を除去し、1位および3位が脱保護されたアゼチジノン(V) (化合物(V))を得る。

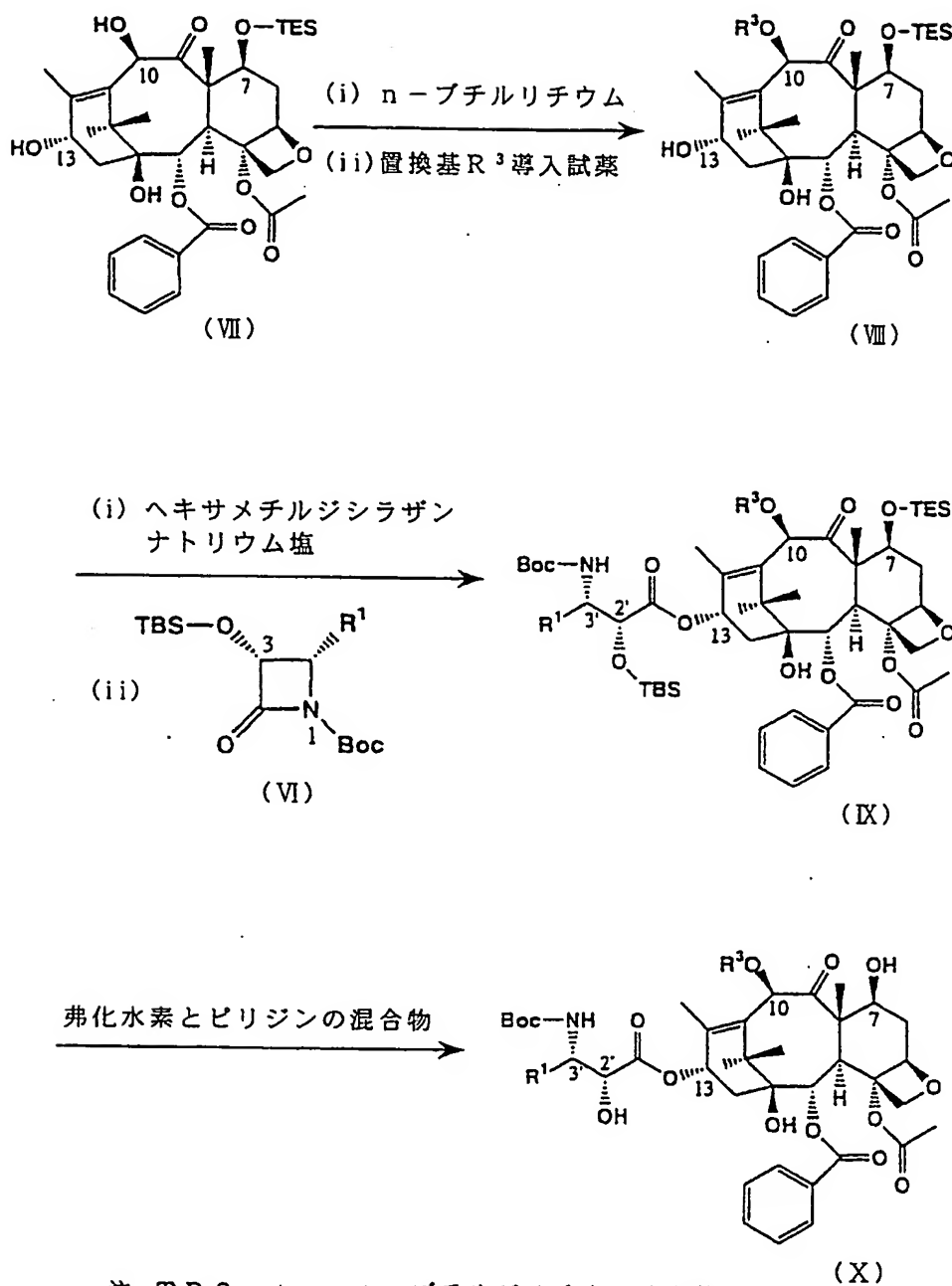
得られた化合物(V)をtert-ブチルジメチルシリルクロリド(以降TBS-Clと称する)と反応させて、3位水酸基がTBS基で保護されたアゼチジノン(V') (化合物(V')) (図示せず)を得る。

得られた化合物(V')を二炭酸ジ-tert-ブチル(以降 $(\text{Boc})_2\text{O}$ と称する)と反応させて、1位NH基がBoc基で、3位水酸基がTBS基で保護されたアゼチジノン(VI) (化合物(VI))を得る。得られた化合物(VI)を、後述するバカチン誘導体(VII)との反応に供する。

上記化合物(IV)のTIPS基をTBS基に交換せず、TIPS基をそのまま保護基として用いても、後述するバカチン誘導体(VII)との反応に適する化合物が得られる場合もある。そのような場合には、化合物(IV)のTIPS基をTB

S 基に交換せずに、化合物 (IV) の p-メトキシフェニル基のみを Boc 基に交換する。即ち、上記化合物 (IV') を、 $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ と反応させることなく $(\text{Boc})_2\text{O}$ と反応させて、1 位 NH 基が Boc 基で、3 位水酸基が TIPS 基で保護されたアゼチジノン (VI') (化合物 (VI')) (図示せず) を得、得られた化合物 (VI') を上記化合物 (VI) の代わりに後述するバカチン誘導体 (VIII) との反応に供する。

<スキーム 2>



注: TBS = tert-ブチルジメチルシリル基
 TES = トリエチルシリル基
 Boc = tert-ブトキシカルボニル基

一方、7-オトリエチルシリル-10-デ-オ-アセチルバカチンⅢ (Ⅶ) (化合物 (Ⅶ)) (Kant et al.の方法で合成。Kant et al., Tetrahedron Lett., 35, 5543-5546, 1994) を、n-ブチルリチウムの存在化で置換基 R^3 導入試薬と反応させ、化合物 (Ⅶ) の10位に結合した酸素原子に置換基 R^3 が導入されたバカチン誘導体 (Ⅷ) を得る。

置換基 R^3 導入試薬としては、下記式：

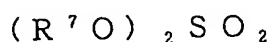
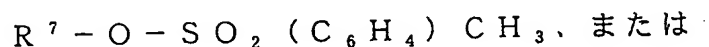
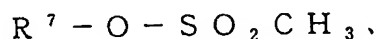


(式中、 R^6 は炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、炭素数1～6のアルコキシカルボニル基および炭素数1～3のアルキル基2個を有し、該アルキル基が同一であっても異なってもよいジアルキルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基を示し、

Xはハロゲン原子を示す。)

で表わされる化合物を用いることができる。

また、 R^3 が炭素数1～6のアルキル基であるタキソイド (Ⅰ) を製造する場合には、上記化合物 $R^6 X$ の代わりに、下記式：



(式中、 R^7 は炭素数1～6のアルキル基を示す。)

で表わされる化合物を用いることも可能である。

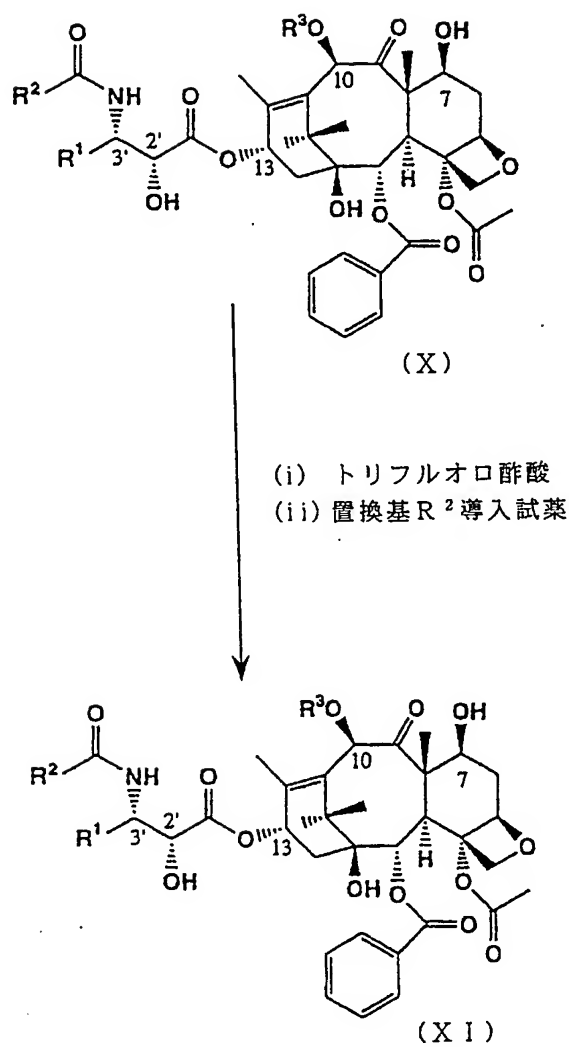
得られたパカチン誘導体 (VIII) を、ヘキサメチルジシラザンナトリウム塩存在下で、上記化合物 (VI) または (VI') と反応させ、2' 位水酸基が TBS 基 (または TIPS 基) で、7 位水酸基がトリエチルシリル基 (以降 TES 基と称する) で保護されたタキソイド (IX) (化合物 (IX)) を得る (スキーム 2 には、2' 位水酸基が TBS 基で保護されたタキソイド (IX) のみを示す)。

得られた化合物 (IX) を、弗化水素とピリジンの混合物により処理して、TBS 基 (または TIPS 基) および TES 基を除去し、2' 位および 7 位水酸基が脱保護されたタキソイド (X) (化合物 (X)) を得る。

得られた化合物 (X) は、X および Y がいずれも水酸基であり、 R^2 が *tert*-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子でないタキソイド (I) に相当する。

この化合物 (X) を次のスキーム 3 に示す処理に付すことにより、 R^2 を *tert*-ブトキシ基以外の基に交換することができる。

<スキーム 3>



上記化合物 (X) をトリフルオロ酢酸と反応させて、化合物 (X) の窒素原子に結合した Boc 基を除去し、3' 位アミノ基並びに 2' 位および 7 位水酸基が脱保護されたタキソイド (X') (化合物 (X')) (図示せず) を得る。

得られた化合物 (X') を、適当な置換基 R^2 導入試薬と反応させて、3' 位アミノ基に置換基 R^2 が導入されたタキソイド (XI) を得る。

置換基 R^2 導入試薬としては、置換基 R^2 の種類に応じて、以下に示すような化合物を用いることができる。

R^2 が炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であるタキソイド (I) を製造する場合には、置換基 R^2 導入試薬として、下記式：



(式中、 R^8 は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基を示し、

Y はハロゲン原子を示す。)、



(式中、 R^8 は上記と同じ意味を有する。)、

または

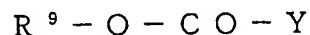


(式中、 R^8 は上記と同じ意味を有する。)

で表わされる化合物を用いることができる。

置換基 R^2 導入試薬として上記式 $R^8 - COOH$ で表わされる化合物を用いる場合、反応を促進するため、通常適当な縮合剤の存在下で反応を行う。縮合剤の例としては、ジシクロヘキシルカルボジイミド、水溶性カルボジイミド塩酸塩 (1-ethyl-3-(3'-dimethylaminopropyl)carbodiimide·HCl) などを挙げることができる。

R^2 が炭素数 1 ～ 10 のアルコキシ基であるタキソイド (I) を製造する場合には、置換基 R^2 導入試薬として、下記式：



(式中、 R^9 は炭素数 1 ～ 10 のアルキル基を示し、
Y はハロゲン原子を示す。)

または



(式中、 R^9 は上記と同じ意味を有する。)

で表わされる化合物を用いることができる。

R^2 が炭素数 1 ～ 6 のアルキルアミノ基であるタキソイド (I) を製造する場合には、置換基 R^2 導入試薬として、下記式：



(式中、 R^{10} は炭素数 1 ～ 6 のアルキル基を示す。)

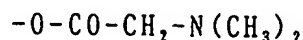
で表わされる化合物を用いることができる。

得られた化合物 (X I) は、X および Y がいずれも水酸基であり、 R^2 が *tert*-ブトキシ基以外の基であり、 R^3 が水素原子でないタキシイド (I) に相当する。

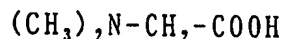
さらに、X および / または Y が、生体内で水酸基に変換され得る基であるタキシイド (I) を製造する場合には、その種類に応じ、適切な方法により化合物 (X) または (X I) の 2' 位 および / または 7 位に生体内で水酸基に変換され得る基を導入する。

例えば、X および / または Y が、上記のような、親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基、または親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スパーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基であるタキシイド (I) を製造する場合には、これらの基に対応するカルボン酸を、適当な縮合剤の存在下で化合物 (X) または (X I) と反応させることにより、所望のタキシイド (I) を得ることができる。

具体的には、下記の基：



を、親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基として用いる場合には、下記式：



で表わされる化合物を、適当な縮合剤の存在下で化合物 (X) または (X I) と反応させることにより、所望のタキシイド (I) を得ることができる。縮合剤の例としては、ジシクロ

ヘキシルカルボジイミド、水溶性カルボジイミド塩酸塩 (1-ethyl-3-(3'-dimethyl-amino-propyl)carbodiimide·HCl)などを挙げるができる。

また、適切な方法により化合物(X)または(X I)の2'位または7位のいずれかの水酸基にのみ適当な保護基を選択的に導入し、次に上記の方法により生体内で水酸基に変換され得る基を導入し、その後適切な方法により、上記の2'位または7位の水酸基に導入した保護基を除去すると、2'位または7位のいずれかにのみ生体内で水酸基に変換され得る基を導入することができる。

次に、R³が水素原子であるタキソイド(I)の製造方法を説明する(この方法は図示されていない)。このようなタキソイド(I)は、上記の方法と本質的に同じ方法で製造できるが、以下のような点が相違する。

上記化合物(VII)を、置換基R³導入試薬の代わりに、適当な保護基導入試薬と反応させ、化合物(VII)の10位水酸基に保護基が導入されたバカチン誘導体(VIII')を得る。

この保護基導入試薬は、水酸基に保護基を導入することができる化合物であれば特に限定されず、所望のタキソイド(I)の製造に適する保護基導入試薬を適宜選択できる。

得られたバカチン誘導体(VIII')を、上記と同様に、ヘキサメチルジシラザンナトリウム塩存在下で、上記化合物(VI)(または化合物(VI'))と反応させ、2'位水酸基がTB

S基（またはTIPS基）で、7位水酸基がTES基で保護され、さらに10位水酸基にも保護基が導入されたタキソイド（IX'）を得る（化合物（IX'））。

得られた化合物（IX'）の2'位、7位および10位水酸基に導入された保護基を適切な方法により除去し、2'位、7位および10位水酸基が脱保護されたタキソイド（X'）（化合物（X'））を得る。

得られた化合物（X'）は、XおよびYがいずれも水酸基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子であるタキソイド（I）に相当する。

また、上記化合物（IX'）を、上記スキーム3に示す処理と同様の処理に付すことにより、3'位アミノ基に置換基R²が導入され、2'位、7位および10位水酸基が保護されたタキソイド（XI'）（化合物（XI'））を得ることができる。

その後、得られた化合物（XI'）の2'位、7位および10位水酸基に導入された保護基を適切な方法により除去し、3'位アミノ基に置換基R²が導入され、2'位、7位および10位水酸基が脱保護されたタキソイド（XII）（化合物（XII））を得る。

得られた化合物（XII）は、XおよびYがいずれも水酸基であり、R²がtert-ブトキシ基以外の基であり、R³が水素原子であるタキソイド（I）に相当する。

更に、上記化合物 (IX') (または (XI')) の 2' 位および 7 位水酸基に導入された保護基を適切な方法で除去し、2' 位および 7 位水酸基が脱保護され、10 位水酸基が保護されたタキソイド (IX') (化合物 (IX')) (または、3' 位アミノ基に置換基 R^2 が導入され、2' 位および 7 位水酸基が脱保護され、10 位水酸基が保護されたタキソイド (XI') (化合物 (XI')) を得ることができる。

その後、上記化合物 (X) または (XI) の 2' 位および / または 7 位に生体内で水酸基に変換され得る基を導入する方法と同様の方法で、得られた化合物 (IX') または (XI') の 2' 位および / または 7 位に生体内で水酸基に変換され得る基を導入し、適切な方法により 10 位水酸基に導入された保護基を除去することにより、X および / または Y が、生体内で水酸基に変換され得る基であり、 R^3 が水素原子であるタキソイド (I) を製造することができる。

以降、本発明の骨形成促進剤において有効成分として用いられる、タキソイド (I) の骨形成促進作用の評価方法につき説明する。

まず、骨形成のメカニズムについて簡単に説明する。

骨形成を担う細胞は骨芽細胞である。骨芽細胞は、未分化の間葉系細胞から分化する細胞であり、骨吸収に伴って活性化される、骨基質中に存在する種々のサイトカイン (上記の $TGF-\beta$ 、 $IGF-I$ 、 BMP など) や、全身作用性の因

子（副甲状腺ホルモン、活性型ビタミンDなど）による刺激を受けて、その分化及び増殖が促進され、またその機能が活性化される。

分化初期～中期の骨芽細胞においては、細胞膜のアルカリフォスファターゼ（ALP）活性が顕著に上昇する。分化後期においては、骨芽細胞は骨表面に単層配列し、主として骨の有機性基質の産生、石灰化、電解質（特にカルシウムイオン）代謝を司り、骨形成を行う。また骨芽細胞は、骨吸収を担う細胞である破骨細胞の活性化の調節を行う機能をも有している（Stein and Lian, "Molecular Mechanisms mediating Developmental and Hormone-regulated Expression of Genes in Osteoblasts", CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY OF BONE, Noda ed., ACADEMIC PRESS, INC., 1993; *Clinical Orthopedics*, 200, 100-113, 1985; *Clinical Orthopedics*, 289, 292-312, 1993; *J. Bone Miner. Res.*, 14, 1805-1815, 1999）。

骨芽細胞の有する以上のような特性に基づき、試料化合物の作用による骨形成の促進（または抑制）の程度を、骨芽細胞におけるALP活性、同細胞よりなる細胞層中のカルシウム量、骨様結節の形成などを指標として評価することができる。即ち、試料化合物の存在下で骨芽細胞を培養した際に、ALP活性の上昇、細胞層中のカルシウム量の増加、骨様結節の形成の促進などが認められれば、試料化合物が骨形成促進作用を有すると評価することができる。これらの指標のう

ち、骨様結節の形成を指標とすると、骨形成の促進（または抑制）の程度を最も適切に評価することができる。

骨様結節とは、骨芽細胞がその周囲の基質（I型コラーゲンが主成分）を石灰化することにより形成される島状の構造物である。活性化された骨芽細胞は、自らの周囲に基質を産生するため、シャーレ等の培養器の底面からやや盛り上がった基質を観察することができる。やがてこの基質が骨芽細胞によって石灰化され、肉眼での観察も可能な白い沈着物となる。骨様結節形成後の骨芽細胞は、その一部が沈着物の内部に包埋されている他は、大部分が沈着物の表層を覆っている。

ただし現時点では、骨芽細胞を他の細胞と明確に区別するための指標が確立されておらず、動物の骨組織から骨芽細胞だけを純粹に単離することは極めて困難である。しかし、純粹に単離された骨芽細胞の代わりに、高いALP活性を示すことや、石灰化機能を有することなど、骨芽細胞と同等の特性を有する細胞集団（「骨芽細胞様細胞（osteoblast-like cells）」と称する）を用いることにより、骨形成の促進（または抑制）の程度を評価することができる。骨芽細胞様細胞は、種々の方法、例えば後述する実施例13に記載の方法により、新生児ラット頭蓋冠から取得することができる、

本発明の骨形成促進剤における有効成分であるタキソイド（I）は、上記のような方法による活性試験において、骨形成促進作用が認められる。

上記の通り、タキソイド（I）として代表的な化合物であるパクリタクセルについては骨吸収抑制作用及び破骨細胞抑制作用を示すことが知られているが、パクリタクセルおよびその類縁化合物の骨形成促進作用に関してはこれまで報告がなかった。

タキソイド（I）の骨形成促進作用の機序は明らかになっていない。しかし、タキソイドが骨芽細胞に直接作用してその分化を促進し、骨形成機能を亢進させると考えられる。

本発明の骨形成促進剤は、少なくとも1種のタキソイドを、薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤と混合することにより製造できる。本発明に用いる担体に特に限定はないが、ゼラチンスポンジ、多孔質ハイドロキシアパタイト、乳酸-グリコール酸共重合体、グリコール酸-カプロラクトン共重合体などを担体として用いることができる。

また本発明の骨形成促進剤は、薬学的に許容される補助剤を添加することにより、それぞれの薬剤形態に適した剤型に調製することができる。このような補助剤としては、例えば基材、安定剤、防腐剤、保存剤、懸濁化剤、溶解剤、溶解補助剤、乳化剤、滑沢剤、粘租剤、賦形剤、結合剤、矯味剤、着色剤、芳香剤、無痛化剤、緩衝剤などが挙げられる。これらの補助剤を利用して本発明の骨形成促進剤を調製する際には、例えば、医薬品添加物一覧表（財団法人東京医薬品工業協会医事法規委員会および大阪医薬品工業協会医事法規研究

委員会発行)の記載に基づいて補助成分を適宜選択すればよい。また補助成分の使用量は、製剤学的に許容されうる範囲内であれば、骨形成促進剤の形態などに応じて選択することができる。

本発明の骨形成促進剤の用途は特に限定されないが、骨折の治療や外科的骨削除による骨欠損部の治療に好ましく用いることができる。本発明において、骨折は再骨折や予後不良骨折等も包む。骨折の治療に際し、本発明の骨形成促進剤を骨折部位に投与することで、正常な骨再生と、回復期間の短縮が可能となる。また本発明において、外科的骨削除は偽関節症の治療、脊椎固定術、人工関節置換術、骨切り術、骨延長術、骨補填術、歯科インプラント移植術、歯周病の治療などを目的として行なわれるものを含む。本発明の骨形成促進剤を、骨の破断面、または骨と移植片(生体材料、自家骨など)との間隙に投与することにより、骨再生、または移植片の骨に対する早期且つ堅固な定着が可能となる。

本発明の骨形成促進剤の剤型に特に限定はないが、骨形成促進剤の剤型として一般的な剤型、例えば注射剤、固形製剤、懸濁剤、軟膏剤、直腸吸収剤、経膈吸収剤、経皮吸収剤、経鼻吸収剤、経肺吸収剤、口腔内吸収剤、経口投与剤などとして用いることができる。

上記のような用途に用いる場合、正常部位ではなく骨疾患部(即ち、骨折部位又は外科的骨削除による骨欠損部)に有

効成分であるタキソイド（I）を到達させることが重要であることから、本発明の骨形成促進剤は局所投与用製剤であることが好ましく、注射剤、固形製剤、懸濁剤、または軟膏剤であることがより好ましい。

本発明の骨形成促進剤を注射剤とした場合、筋肉内投与または静脈内投与することが可能である。

本発明の骨形成促進剤を棒状、針状、球状、フィルム状などに整形した固形製剤や軟膏剤とした場合、骨障害部位または骨欠損部位に包埋または塗布して使用することができる。

本発明の骨形成促進剤を直腸吸収剤や経膣吸収剤とする場合には、坐剤として調製するのが一般的である。

本発明の骨形成促進剤を経鼻吸収剤や経皮吸収剤とする場合には、適当な吸収促進剤を含有する製剤として調製することができ、経肺吸収剤とする場合には、適当な分散剤もしくは水および噴射剤を含有するエアゾール組成物として調製することができる。

本発明の骨形成促進剤を口腔内吸収剤とする場合には、適当な吸収促進剤を含有する、例えば、舌下錠やテープ剤などとして調製することができる。

本発明の骨形成促進剤を経口投与剤とする場合には、リポソーム製剤やマイクロカプセル製剤などとして調製することができる。

本発明の骨形成促進剤におけるタキソイド（I）の含有量

は、骨形成に有効な量であれば特に限定はないが、使用する担体が徐放性を有する場合には、その徐放性に基づいてタキソイド（I）の含有量を適宜変更することもできる。

本発明の骨形成促進剤は、タキソイド（I）と共に、他の骨疾患治療薬、例えばカルシウム塩類、ビタミンD類、ビタミンK類、副甲状腺ホルモン、性ホルモン類、ビスフォスフォネート類、イブリフラボン、フッ素化合物、プロスタグランディン類、TGF- β 、IGF-1およびIGF-2、FGF、BMPなどを含有していてもよい。

本発明の骨形成促進剤の投与量は、骨形成に有効な量であれば特に限定はなく、患者の年齢、性別、体重、病状、有効成分であるタキソイド（I）の含有量などにより異なる。

本発明の骨形成促進剤の、成人の患者に対する1回の投与あたりの投与量の下限は、体重50kgあたり、少なくとも1種のタキソイド（I）の量として、通常100ng、好ましくは10 μ g以上、より好ましくは250 μ g以上である。また投与量の上限は、体重50kgあたり、少なくとも1種のタキソイド（I）の量として、通常50mg、好ましくは1.25mg、より好ましくは1mgである。

本発明の骨形成促進剤の有効成分であるタキソイド（I）として代表的な化合物であるパクリタクセルは、上記したように、現在抗癌剤やリウマチの治療薬として用いられている。

タキソール製品情報概要（日本標準商品分類番号8742

4) によれば、パクリタクセルを抗癌剤として用いる場合には、1日1回、 $210\text{ mg} / \text{cm}^2$ (体表面積) (即ち、 $6.02\text{ mg} / \text{kg}$) のパクリタクセルを3時間かけて点滴静注することができる。

また、パクリタクセルをリウマチの治療薬として用いる場合には、例えば、 $1 \sim 10\text{ mg} / \text{kg}$ のパクリタクセルをリウマチの治療薬として患者に投与することができる (米国特許第5、583、153号)。

また化学構造の類似性から、パクリタクセル以外のタキソイド (I) についても、パクリタクセルと同様に、抗癌作用や抗リウマチ作用を示し、その投与量も概ねパクリタクセルと同程度と考えられる。

これに対し、タキソイド (I) を本発明の骨形成促進剤の有効成分として用いる場合、その投与量は、上記の用途に用いる場合に比べて低く、体重 1 kg 当たりの投与量に換算すると、通常 $2\text{ ng} \sim 1\text{ mg}$ の範囲である。

また、後述する実施例13～15に示すように、タキソイド (I) は、投与量がある範囲内にあるときには骨形成促進作用を示すが、その範囲を上回っても下回っても骨形成促進作用を示さないか、示しても微弱となる。更に、図13及び14に示すように、多量のタキソイド (I) の投与によって、骨芽細胞様細胞内におけるALP活性とカルシウムイオン濃度の低下を生じることが観察されている。このような知見は

本発明者等によって初めて見出されたものである。

以上から明らかな通り、タキソイド（I）を本発明の骨形成促進剤の有効成分として用いる場合には、制癌剤やリウマチ治療剤の有効成分として用いる場合とは使用法が明らかに異なる。

本発明の薬剤の投与期間は、原則として、臨床的に骨病変、障害、又は欠損が観察される期間とする。しかし、病因や病態に応じて臨床医が回復後の投与が必要であると判断した場合には、骨形成促進剤の投与を続けることができる。一般的な投与回数としては、1週間ないし3ヶ月に1回投与することができる。

本発明の骨形成促進剤を、骨不全を有する患者に投与すると、骨欠損部における骨形成が著しく促進されるので、骨折の治療、外科的骨削除による骨欠損部の治療、骨疾患の予防などにおいて極めて有効である。

更に本発明においては、上記タキソイド（I）および薬学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤を含有してなる骨形成促進剤を、骨不全を有する患者に投与することを含む、骨形成を促進する方法が提供される。本発明においては、上記タキソイド（I）を、上記タキソイド（I）および薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤の形で投与することが好ましい。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

以下の実施例において、種々の分析は下記のようにして行った。

(1) 高速原子衝撃質量スペクトル (FAB-MS)

日本国日本電子株式会社製 JMS-AX500 型質量分析装置を用いて測定した。マトリックスは m-ニトロベンジルアルコールを使用した。

(2) プロトン核磁気共鳴 (^1H -NMR) スペクトル

米国 Varian 社製 Gemini-300 型核磁気共鳴装置を用いて測定した。

なお、 ^1H -NMR スペクトル用の試料は以下のようにして調製した。

適量の試料化合物と内部標準物質 (テトラメチルシラン) を重水素化クロロホルムに溶解して得られた溶液を NMR スペクトル測定用試料管に適量入れ、これに少量の重水を添加し、激しく振り混ぜた後静置し、試料管中で水層と有機層が明瞭に分離したことを確認した上で、スペクトル測定に供した。

(3) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

ドイツ国M e r c k社製T L Cプレート シリカゲル60
F₂₅₄（製品番号：1, 05715）を用いて行った。

試料の検出は、展開後のT L Cプレートを、紫外線ランプ（波長254nm）照射下で目視にて観察するか、展開後のT L Cプレートをリンモリブデン酸アンモニウムのエタノール飽和溶液に浸漬した後、ヒートガンで加熱し、プレート上で試料を発色させることにより行った。

（4）鏡像異性体過剰率の測定

以下の条件において、試料を光学活性な固定相を用いる高速液体クロマトグラフィー（キラルH P L C）に付し、得られたクロマトグラムにおける、2種の光学異性体に対応するピークの面積比を求め、これを鏡像異性体過剰率とした。

・キラルH P L Cの条件

カラム：日本国ダイセル化学工業株式会社製 CHIRALCEL OD

装置：日本国日本分光株式会社製800型高速液体クロマト
グラフ

移動相：ヘキサン／2-プロパノール＝13／1

流速：1ml／min

検出：波長254nmの紫外線に対する吸光度

以下の実施例において、次のような略語を用いる。

THF : テトラヒドロフラン

(Boc)₂O : 二炭酸ジ-tert-ブチル (di-tert-butyl-dicarbonate)

n-Bu₄NF : テトラ-n-ブチルアンモニウムフルオリド

DMF : ジメチルホルムアミド

DMSO : ジメチルスルホキシド

EDTA : エチレンジアミン四酢酸

実施例 1

3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-10-O-アセチルドセタクセル (AZ42005) の合成

p-アニシジン 1.23 g (10 mmol) をジクロロメタン 10 ml に溶解し、得られた溶液に無水硫酸マグネシウム 850 mg を加え、-78℃に冷却した後、トランス-2-メチル-2-ブテナール 4.85 ml (50 mmol) を含むジクロロメタン溶液 10 ml を滴下し、室温まで昇温して一晩攪拌した。

得られた反応混合物を濾過して硫酸マグネシウムを除去し、減圧下で溶媒を留去して、N-(4-メトキシフェニル)-トランス-2-メチル-2-ブテンアルジミン (化合物 1-III) を得た。

化合物 1-III は極めて不安定であるため、これ以上の精製を行わず、得られた化合物 1-III の全量を直ちに 10 ml の TH

Fに溶解し、得られた溶液を直ちに次段階の反応に供した。

ジイソプロピルアミン 1.37 ml (11 mmol) を、新たに蒸留した乾燥 THF 10 ml に溶解し、得られた溶液をアルゴン雰囲気下 -30℃ に冷却した後、n-ブチルリチウムの 1.6 M ヘキサン溶液 6.55 ml (11 mmol の n-ブチルリチウムを含む) を滴下し、0℃ まで昇温して 30 分間攪拌し、リチウムジイソプロピルアミドを含む溶液を調製した。

この溶液を -78℃ に冷却し、(-)-(1R, 2S)-2-フェニル-1-シクロヘキシル トリイソプロピルシリルオキシアセテート (Ojima et al. の方法で合成。Ojima et al., Tetrahedron, 48, 6985-7012, 1992) (化合物 II) 3.91 g (10 mmol) を含む THF 溶液 10 ml を 1.5 時間かけて滴下した後、2 時間攪拌し、更に、上記の化合物 1-III を含む THF 溶液を 30 分間かけて滴下した後、室温まで昇温して一晩攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、50 ml の飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、室温まで昇温した後、酢酸エチル 50 ml で 2 回抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウム 15 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 15/1) にて精製し、(3R, 4S)-1-(4-メトキシフェニル)-3-トリイソプロピルシリルオキシ-4-(シス-2-ブテニル) アゼチジン-2-オン 2.89 g (7.16 mmol、

71

収率 71.6% (化合物 1-IV) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 20/1、二重展開) における R_f 値: 0.52

FAB-MS: 404 (M^{H+})

鏡像異性体過剰率: 69.9%

この化合物 1-IV 80.7 mg (0.20 mmol) (光学分割せずに使用) をアセトニトリル 2 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、硝酸ニアンモニウムセリウム (IV) 334 mg (0.61 mmol) を含む水溶液 3 ml をゆっくり滴下し、氷冷下で 30 分間攪拌した。

得られた反応混合物に水 15 ml を加え、酢酸エチル 20 ml で 2 回抽出し、有機層を 10% 亜硫酸ナトリウム水溶液 20 ml、5% 重曹水溶液 20 ml、飽和食塩水 20 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 5/1) にて精製し、(3R, 4S) - 3-トリイソプロピルシリルオキシ-4-(シス-2-ブテニル) アゼチジン-2-オン (化合物 1-IV') 40.2 mg (0.135 mmol、収率 67.5%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 5/1) における R_f 値: 0.36

FAB-MS: 297 (M⁺)

この化合物 1-IV' 845 mg (2.84 mmol) と触媒量 (20 mg) の 4-ジメチルアミノピリジンをジクロロメタン 20 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、トリエチルアミン 950 μ l (6.82 mmol) と (Boc)₂O 744 mg (3.41 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、氷水 50 ml を加え、室温まで昇温した後、50 ml のジクロロメタンで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水 50 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 10/1) にて精製し、(3R, 4S)-1-tert-ブトキシカルボニル-3-トリイソプロピルシリルオキシ-4-(シス-2-ブテニル)アゼチジン-2-オン (化合物 1-VI') 840 mg (2.11 mmol, 74%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 10/1) における R_f 値: 0.54

FAB-MS: 398 (MH⁺)

この化合物 1-VI' 169.9 mg (0.428 mmol) と 7-オ-トリエチルシリルバカチン III (Kant et al. の方法で合成。Kant et al., *Tetrahedron Lett.*, 35, 5543-5546, 1994) 200 mg (0.285 mmol) を、アルゴン雰囲気下、新

たに蒸留した乾燥THF 6 ml に溶解し、得られた溶液を -30°C に冷却し、ヘキサメチルジシラザンナトリウム塩の1 M THF 溶液 $428\ \mu\text{l}$ ($0.428\ \text{mmol}$ のヘキサメチルジシラザンナトリウム塩を含む) を滴下して、 -30°C で1.5時間攪拌した。

得られた反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液 10 ml を加え、20 ml のエーテルで2回抽出した。有機層を飽和食塩水 20 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 10/1) にて精製し、3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-2'-O-トリイソプロピルシリル-10-O-アセチル-7-O-トリエチルシリルドセタクセル (化合物 1-IX) $214\ \text{mg}$ ($0.195\ \text{mmol}$ 、収率 68.4%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 3/1、二重展開) における R_f 値: 0.55

FAB-MS: 1098 (MH^+)

この化合物 1-IX $135\ \text{mg}$ ($0.123\ \text{mmol}$) をピリジン 2 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、弗化水素とピリジンの混合物 {Hydrogen fluoride-pyridine (米国アルドリッチ社製、製品番号 18,422-5) を使用。} (この試薬の容器には、「HF (弗化水素): 70%、ピリジン: 30%」と記載

されている。このことに基づき、以降この混合物を単に「弗化水素－ピリジン（7：3）」と称する）1 mlを加え、室温まで昇温して4.5時間攪拌した後、再び弗化水素－ピリジン0.5 mlを加え、室温で更に6時間攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、エーテル50 mlと2 N塩酸50 mlを加えて攪拌した後、室温まで昇温し、有機層を分離して、水50 mlで洗浄した後、無水硫酸ナトリウム5 gで乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）にて精製し、3'－デスフェニル－3'－（シス－2－ブテニル）－10－O－アセチルドセタクセル（AZ 42005）35.5 mg（0.0429 mol、収率34.9%）を得た。

上記化合物1－IVを光学分割せずに使用したことに伴い、上記反応混合物中にはAZ 42005の（2' S, 3' R）異性体が混在していたが、このクロマトグラフィーにより分離・除去された。

AZ 42005の¹H－NMRスペクトルを図1に示す。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）におけるR_f値：0.34

FAB－MS：828（MH⁺）

実施例 2

3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10-O-アセチルドセタクセル (AZ42018) の合成

トランス-2-メチル-2-ブテナールの代わりに2-エチルブチルアルデヒド501mg (5.0mmol)を用い、その他の試薬の量を適宜変更する以外は、実施例1に記載の化合物1-IVの合成と同様の操作を行い、(3R, 4S)-1-(4-メトキシフェニル)-3-トリイソプロピルシリルオキシ-4-(3-ペンチル)アゼチジン-2-オン (化合物2-IV) 1.03g (2.44mmol, 48.8%)を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル=10/1) におけるR_f値: 0.41

FAB-MS: 420 (MH⁺)

鏡像異性体過剰率: 53.5%

化合物1-IVの代わりに化合物2-IV 976.4mg (2.33mmol)を用い、その他の試薬の量を適宜変更する以外は、実施例1に記載の化合物1-Vの合成と同様の操作を行い、(3R, 4S)-3-トリイソプロピルシリルオキシ-4-(3-ペンチル)アゼチジン-2-オン (化合物2-IV') 481mg (1.53mmol, 65.7%)を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル=5/1) におけるR_f値: 0.23

FAB-MS: 314 (MH⁺)

この化合物 2-IV' 408.7 mg (1.30 mmol) をアルゴン雰囲気下 10 ml の THF に溶解し、得られた溶液に $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ の 1 M THF 溶液 2.46 ml (2.46 mmol の $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ を含む) を加え、室温で 30 分攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、飽和食塩水 50 ml を加えた後、室温まで昇温し、50 ml の酢酸エチルで 2 回抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 1/2) にて精製し、(3R, 4S) - 3-ヒドロキシ-4-(3-ペンチル) アゼチジン-2-オン (化合物 2-V) 191.4 mg (1.22 mmol, 93.8%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 1/2) における R_f 値: 0.35

FAB-MS: 158 (MH⁺)

この化合物 2-V 190 mg (1.21 mmol) をアルゴン雰囲気下 10 ml の DMF に溶解し、得られた溶液にイミダゾール 206 mg (3.02 mmol) および tert-ブチルジメチルシリルクロリド 201 mg (1.33 mmol) を加えて室温で一晩攪拌した。

得られた反応混合物にヘキサン 50 ml を加え、有機層を水

50 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝2／1）にて精製し、（3R, 4S）-3-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-4-（3-ペンチル）アゼチジン-2-オン（化合物 2-V'）322.2 mg（1.19 mmol, 98.1%）を得た。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝10／1）における R_f 値：0.36

FAB-MS：272（MH⁺）

この化合物 2-V' 319 mg（1.18 mmol）をジクロロメタン 15 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、アルゴン雰囲気下に、トリエチルアミン 395 μl（2.83 mmol）、（Boc）₂O 325 μl（1.42 mmol）、触媒量（10 mg）の 4-ジメチルアミノピリジンを加え、室温で 5 時間攪拌後、（Boc）₂O 160 μl（0.70 mmol）を追加し一晩攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、氷水 50 ml を加え、室温まで昇温した後、50 ml のジクロロメタンで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水 50 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸

エチル = 5 / 1) にて精製し、(3R, 4S) - 1 - tert -
ブトキシカルボニル - 3 - tert - ブチルジメチルシリル
オキシ - 4 - (3 - ペンチル) アゼチジン - 2 - オン (化合物
2 - VI) 448 mg (定量的) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン / 酢酸エチル = 3 / 1) におけ
る R_f 値: 0.77

FAB-MS: 372 (MH⁺)

この化合物 2 - VI 146.6 mg (0.395 mmol) と
7 - O - トリエチルシリルバカチン III (実施例 1 で用いたもの
と同じ) 184 mg (0.263 mmol) を、新たに蒸留し
た乾燥 THF 6 ml に溶解し、得られた溶液を -30℃ に冷却
し、ヘキサメチルジシラザンナトリウム塩の 1 M THF 溶液 4
52 μl (0.452 mmol のヘキサメチルジシラザンナト
リウム塩を含む) を滴下して、-30℃ で 1.5 時間攪拌した。

得られた反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液 30 ml
を加え、30 ml のエーテルで 2 回抽出した。有機層を飽和食
塩水 30 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、
減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロ
マトグラフィー (溶離液: ヘキサン / 酢酸エチル = 3 / 1) に
て精製し、3' - デスフェニル - 3' - (3 - ペンチル) - 2' -
O - tert - ブチルジメチルシリル - 10 - O - アセチル
- 7 - O - トリエチルシリルドセタクセル (化合物 2 - IX) 1

70 mg (0.159 mmol, 60.5%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 3/1) における R_f 値: 0.62

FAB-MS: 1072 (MH⁺)

化合物 2-IX 137 mg (0.128 mmol) をピリジン 2 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、弗化水素-ピリジン (7:3) 1 ml を加え、室温まで昇温して 5 時間攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、エーテル 50 ml と 1 N 塩酸 50 ml を加えて攪拌した後、室温まで昇温し、有機層を分離して、水 50 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) にて精製し、3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10-O-アセチルドセタクセル (AZ 42018) 72 mg (0.0853 mmol, 66.6%) を得た。

上記化合物 2-IV を光学分割せずに使用したことに伴い、上記反応混合物中には AZ 42018 の (2' S, 3' R) 異性体が混在していたが、このクロマトグラフィーにより分離・除去された。

AZ 42018 の ¹H-NMR スペクトルを図 2 に示す。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) における R_f 値: 0.20

FAB-MS : 844 (MH^+)

実施例 3

3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-ベンゾイルド セタクセル (AZ42009) の合成

(3R, 4S) - 3-トリイソプロピルシリルオキシ-4-イソブチルアゼチジン-2-オン (Ojima et al. の方法にて合成。Ojima et al., *Tetrahedron*, 48, 6985-7012, 1992) (化合物 3-IV') 830 mg (2.77 mmol) をアルゴン雰囲気下 10 ml の THF に溶解し、得られた溶液に $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ の 1 M THF 溶液 3.50 ml (3.50 mmol の $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ を含む) を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、飽和食塩水 50 ml を加えた後、室温まで昇温し、50 ml の酢酸エチルで 2 回抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: 酢酸エチル) にて精製し、(3R, 4S) - 3-ヒドロキシ-4-イソブチルアゼチジン-2-オン (化合物 3-V) 363 mg (2.54 mmol, 91.7%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 2/1) における Rf 値: 0.1

FAB-MS : 144 (MH^+)

この化合物 3-V 430 mg (3.00 mmol) をアルゴン雰囲気下 20 ml の DMF に溶解し、得られた溶液にイミダゾール 511 mg (7.50 mmol) および tert-ブチルジメチルシリルクロリド 543 mg (3.60 mmol) を加え、室温で 15 分間攪拌した。

得られた反応混合物に水 50 ml を加え、50 ml のヘキサンで 2 回抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル = 5 / 1）にて精製し、(3R, 4S) - 3-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-4-イソブチルアゼチジン-2-オン（化合物 3-V'）717 mg (2.78 mmol, 92.8%) を得た。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル = 2 / 1）における R_f 値：0.80

FAB-MS：258 (MH⁺)

この化合物 3-V' 700 mg (2.72 mmol) をジクロロメタン 30 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、アルゴン雰囲気下に、トリエチルアミン 910 μ l (6.53 mmol)、(Boc)₂O 875 μ l (3.81 mmol)、触媒量 (21 mg) の 4-ジメチルアミノピリジンを加え、室温で一晩攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下、氷水 50 ml を加え、室温

まで昇温した後、50 ml の酢酸エチルで2回抽出した。有機層を飽和食塩水50 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝10／1）にて精製し、(3R, 4S) - 1 - tert - ブトキシカルボニル - 3 - tert - ブチルジメチルシリルオキシ - 4 - イソブチルアゼチジン - 2 - オン（化合物3 - VI）959 mg（2.68 mmol、98.6%）を得た。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝2／1）におけるR_f値：0.90

FAB - MS：358（MH⁺）

この化合物3 - VI 91.2 mg（0.26 mmol）と130 mg（0.17 mmol）の7 - オートリエチルシリル - 10 - デーオ - アセチル - 10 - オ - ベンゾイルバカチンⅢ（Kant et al.の方法で合成。Kant et al., Tetrahedron Lett., 35, 5543-5546, 1994）を、アルゴン雰囲気下、新たに蒸留した乾燥THF 6 ml に溶解し、得られた溶液を - 30℃に冷却し、ヘキサメチルジシラザンナトリウム塩の1 M THF 溶液 255 μl（0.26 mmolのヘキサメチルジシラザンナトリウム塩を含む）を滴下して、 - 30℃で1時間攪拌した。

得られた反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液30 mlを加え、30 mlのエーテルで2回抽出した。有機層を飽和食

塩水 30 ml で洗浄した後、無水硫酸マグネシウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝5／1→1／1）にて精製し、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-10-O-ベンゾイル-7-O-トリエチルシリルドセタクセル（化合物 3-IX）172 mg（0.24 mmol、90.5%）を得た。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝2／1）における R_f 値：0.70

FAB-MS：1120（MH⁺）

この化合物 3-IX 160 mg（0.14 mmol）をピリジン 10 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、弗化水素-ピリジン（7：3）2 ml を加えて、氷冷下で 1 時間攪拌した後、室温まで昇温して 5 時間攪拌した。

得られた反応混合物にエーテル 50 ml を加え、有機層を水 50 ml、1 N 塩酸 50 ml、水 50 ml の順で洗浄した後、無水硫酸マグネシウム 3 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝2／1→3／2）にて精製し、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ベンゾイルドセタクセル（AZ 42009）118 mg（0.13 mmol、94.6%）を得た。

A Z 4 2 0 0 9 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを図 3 に示す。

T L C (展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝2／1) における R f 値：0. 2 0

F A B - M S : 8 9 2 (MH^+)

実施例 4

3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-オ-ブタノイルドセタクセル (A Z 4 2 0 1 0) の合成

7-オ-トリエチルシリル-10-デ-オ-アセチルバカチンⅢ (Kant et al. の方法で合成。Kant et al., Tetrahedron Lett., 35, 5543-5546, 1994) 537 mg (0. 815 mmol) を、アルゴン雰囲気下、新たに蒸留した乾燥 THF 6 ml に溶解し、得られた溶液を -40°C に冷却し、n-ブチルリチウムの 1. 64 M ヘキサン溶液 696 μl (1. 14 mmol の n-ブチルリチウムを含む) を滴下し、次いで塩化ブタノイル 118 μl (1. 14 mmol) を滴下して 10 分間攪拌し、その後 0°C まで昇温してさらに 1 時間攪拌した。

得られた反応混合物に氷水 50 ml を加え、50 ml の酢酸エチルで 2 回抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝2／1) にて精製し、7-オ-トリエチルシリル-10-デ-オ-アセチル-10-オ-ブタノイルバカチンⅢ (化合物 4-VIII)

85

481 mg (0.660 mmol, 81.0%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) における R_f 値: 0.62

FAB-MS: 729 (MH⁺)

化合物 3-VI (実施例 3 で得たものと同じ) 96.5 mg (0.27 mmol) と、化合物 4-VIII 131 mg (0.18 mmol) を、アルゴン雰囲気下、新たに蒸留した乾燥 THF 7 ml に溶解し、得られた溶液を -30℃ に冷却し、ヘキサメチルジシラザンナトリウム塩の 1 M THF 溶液 270 μl (0.27 mmol のヘキサメチルジシラザンナトリウム塩を含む) を滴下して、-30℃ で 2 時間攪拌した。

得られた反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液 30 ml を加え、30 ml のエーテルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水 30 ml で洗浄した後、無水硫酸マグネシウム 3 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 5/1 → 3/2) にて精製し、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-10-O-ブタノイル-7-O-トリエチルシリルドセタクセル (化合物 4-IX) 174 mg (0.24 mmol, 89.4%) を得た。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 2/1) における R_f 値: 0.80

FAB-MS : 1086 (MH⁺)

この化合物 4-IX 160 mg (0.15 mmol) をピリジン 10 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、弗化水素-ピリジン (7 : 3) 2 ml を加えて、氷冷下で 0.5 時間攪拌した後、室温まで昇温して 4.5 時間攪拌した。

得られた反応混合物にエーテル 50 ml を加え、有機層を水 50 ml、1 N 塩酸 50 ml、水 50 ml の順で洗浄した後、無水硫酸マグネシウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ヘキサン / 酢酸エチル = 2 / 1 → 1 / 1) にて精製し、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ブタノイルドセタクセル (AZ 42010) 100 mg (0.12 mmol、77.9%) を得た。

AZ 42010 の ¹H-NMR スペクトルを図 4 に示す。

TLC (展開溶媒 : ヘキサン / 酢酸エチル = 1 / 1) における R_f 値 : 0.20

FAB-MS : 858 (MH⁺)

実施例 5

デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル (AZ 42020) の合成

デ-N-ベンゾイル-N-tert-ブトキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル (Ojima et al. の方法で合成。Ojima et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 4, 2631-2934, 1994) (化合物 5-X) 336 mg (0.404 mmol) を塩化メチレン 4 ml に溶解し、得られた溶液を -5℃ に冷却し、トリフルオロ酢酸 1 ml を加えて 1 時間攪拌した。

得られた反応混合物に飽和重曹水溶液 50 ml を加えて中和した後、50 ml のクロロホルムで 2 回抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: 酢酸エチル/メタノール = 20/1) にて精製し、デ-N-ベンゾイル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル (化合物 5-X') 194 mg (0.266 mmol, 65.8%) を得た。

TLC (展開溶媒: 酢酸エチル/メタノール/トリエチルアミン = 20/1/0.1) における R_f 値: 0.31

FAB-MS: 730 (M⁺)

この化合物 5-X' 18 mg (25 μmol) を酢酸エチル 1.5 ml に溶解し、得られた溶液に、飽和重曹水溶液 1.5 ml および二炭酸ジ-tert-アミル (di-tert-amyl-dicarbonate) 7.9 mg (32 μmol) を加え、室温で 5 時

間攪拌した。

得られた反応混合物に水 30 ml を加え、酢酸エチル 30 ml で抽出した。有機層を飽和食塩水 30 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル = 1 / 1）にて精製し、デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル（AZ 42020）21.7 mg（定量的）を得た。

AZ 42020 の ^1H -NMR スペクトルを図 5 に示す。

TLC（展開溶媒：酢酸エチル／メタノール／トリエチルアミン = 20 / 1 / 0.1）における R_f 値：0.88

FAB-MS：844 (MH⁺)

実施例 6

デ-N-ベンゾイル-N-イソプロポキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル（AZ 42021）の合成

化合物 5-X'（実施例 5 で得たものと同じ）30 mg（41 μmol ）を酢酸エチル 1.5 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、飽和重曹水溶液 1.5 ml およびクロロ炭酸イソプロピル 6.6 mg（53 μmol ）を加え、室温で 1 時間攪拌した後、クロロ炭酸イソプロピル 6.6 mg（53 μmol ）

を追加し、2時間攪拌した。

得られた反応混合物に水30mlを加え、酢酸エチル30mlで抽出した。有機層を飽和食塩水30mlで洗浄した後、無水硫酸ナトリウム5gで乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）にて精製し、デ－N－ベンゾイル－N－イソプロポキシカルボニル－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパクリタクセル（AZ42021）12.2mg（15μmol、36.5%）を得た。

AZ42021の¹H-NMRスペクトルを図6に示す。

TLC（展開溶媒：酢酸エチル／メタノール／トリエチルアミン＝20／1／0.1）におけるR_f値：0.57

FAB-MS：816（MH⁺）

実施例7

デ－N－ベンゾイル－N－ベンジルオキシカルボニル－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパクリタクセル（AZ42022）の合成

化合物5-X’（実施例5で得たものと同じ）30mg（41μmol）を酢酸エチル1.5mlに溶解し、得られた溶液に、氷冷下、飽和重曹水溶液1.5mlおよびクロロ炭酸ベンジル（Z－クロリド）9.0mg（53μmol）を加え、室温で1時間攪拌した。

得られた反応混合物に水 30 ml を加え、酢酸エチル 30 ml で抽出した。有機層を飽和食塩水 30 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）にて精製しデ－N－ベンゾイル－N－ベンジルオキシカルボニル－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42022）20.1 mg（23 μ mol、56.6%）を得た。

AZ 42022 の ^1H -NMR スペクトルを図 7 に示す。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）における R_f 値：0.37

FAB-MS：864 (MH⁺)

実施例 8

デ－N－ベンゾイル－N－アダマンチルオキシカルボニル－3'－デスフェニル－3'－イソブチルパクリタクセル（AZ 42023）の合成

化合物 5-X'（実施例 5 で得たものと同じ）22 mg（30 μ mol）を酢酸エチル 1.5 ml に溶解し、氷冷下飽和重曹水溶液 1.5 ml および 1-アダマンチルフロロホルメート（1-adamantyl fluoroformate）18 mg（91 μ mol）を加え、室温で 1 時間攪拌した。

得られた反応混合物に水 30 ml を加え、酢酸エチル 30 ml

1で抽出した。有機層を飽和食塩水30mlで洗浄した後、無水硫酸ナトリウム5gで乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）にて精製し、デ－N－ベンゾイル－N－アダマンチルオキシカルボニル－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパクリタクセル（AZ42023）12.8mg（14.1μmol、46.7%）を得た。

AZ42023の¹H-NMRスペクトルを図8に示す。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）におけるR_f値：0.43

FAB-MS：908（MH⁺）

実施例9

デ－N－ベンゾイル－N－（3，3－ジメチルブタノイル）－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパクリタクセル（AZ42024）の合成

化合物5－X’（実施例5で得たものと同じ）18.7mg（27.4μmol）を酢酸エチル1.5mlに溶解し、得られた溶液に、氷冷下、飽和重曹水溶液1.5mlおよび3，3－ジメチルブタノイルクロリド4.8mg（36μmol）を加え、室温で1時間攪拌した

得られた反応混合物に水30mlを加え、酢酸エチル30mlで抽出した。有機層を飽和食塩水30mlで洗浄した後、無

水硫酸ナトリウム 5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）にて精製し、デ－N－ベンゾイル－N－（3，3－ジメチルブタノイル）－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパクリタクセル（AZ 42024）20 mg（24 μ mol、88%）を得た。

AZ 42024 の¹H－NMR スペクトルを図9に示す。

TLC（展開溶媒：酢酸エチル／メタノール／トリエチルアミン＝20／1／0.1）におけるR_f値：0.80

FAB－MS：828（MH⁺）

実施例10

デ－N－ベンゾイル－N－ヘキサノイル－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパクリタクセル（AZ 42025）の合成

化合物5－X’（実施例5で得たものと同じ）30 mg（41 μ mol）を酢酸エチル1.5 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、飽和重曹水溶液1.5 ml および塩化ヘキサノイル7.2 mg（54 μ mol）を加え、室温で1時間攪拌した。

得られた反応混合物に水30 ml を加え、酢酸エチル30 ml で抽出した。有機層を飽和食塩水30 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウム5 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）にて精製し、デ－N－ベンゾイ

ル-N-ヘキサノイル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル (AZ 42025) 14.6 mg (17.6 μ mol, 42.8%) を得た。

AZ 42025 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを図 10 に示す。

TLC (展開溶媒: 酢酸エチル/メタノール/トリエチルアミン = 20/1/0.1) における R_f 値: 0.83

FAB-MS: 828 (MH^+)

実施例 11

デ-N-ベンゾイル-N-(tert-ブチルカルバモイル)-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル (AZ 42026) の合成

化合物 5-X' (実施例 5 で得たものと同じ) 25 mg (34 μ mol) および 4-ジメチルアミノピリジン 4 mg (34 μ mol) を酢酸エチル 3 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、イソシアン酸-tert-ブチル 3.3 mg (34 μ mol) を加えて室温で 1 晩攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下氷水 50 ml を加え、室温まで昇温した後、50 ml のジクロロメタンで 2 回抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) にて精製し、デ-N-ベンゾイル-N-tert-ブチルカルバモイル-3'-デス

フェニル-3'-イソブチルパクリタクセル(AZ42026)

24.8 mg (29.9 μ mol, 88.7%)を得た。

AZ42026の ^1H -NMRスペクトルを図11に示す。

TLC (展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) におけるRf値: 0.20

FAB-MS: 829 (MH^+)

実施例12

デ-N-ベンゾイル-N-(3-フロイル)-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル(AZ42027)の合成

3-焦性粘液酸 (3-Furoic acid) 4.6 mg (41 μ mol)、水溶性カルボジイミド塩酸塩 (1-ethyl-3-(3'-dimethylamino-propyl)carbodiimide·HCl) 19 mg (45 μ mol) および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール 6.1 mg (45 μ mol) をDMF 1.5 ml に溶解し、得られた溶液に、氷冷下、化合物5-X' (実施例5で得たものと同じ) 30 mg (41 μ mol) を含むDMF溶液 1.5 ml を滴下し、室温で1晩攪拌した。

得られた反応混合物に、氷冷下氷水 50 ml を加え、室温まで昇温した後、50 ml の酢酸エチルで2回抽出し、有機層を水 50 ml で3回洗浄した後、無水硫酸ナトリウム 10 g で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラ

ムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝2／3）にて精製し、デ－N－ベンゾイル－N－（3－フロイル）－3’－デスフェニル－3’－イソブチルパグリタクセル（AZ 42027）13.4 mg（16.3 μ mol、39.7%）を得た。

AZ 42027の ^1H -NMRスペクトルを図12に示す。

TLC（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝1／1）におけるR_f値：0.44

FAB-MS：824（MH⁺）

実施例 13

生後1日令のSDラット（日本国、日本チャールスリバー社製）より頭蓋冠を無菌的に採取した。採取した頭蓋冠を細切にし、これを0.1%コラゲナーゼ、0.05%トリプシン及び4 mM EDTA・2 Naを含むリン酸緩衝生理食塩水中、室温で20分間振とうし、遊離してくる細胞を回収した。この操作を6回繰り返し、後半4回分の回収細胞を骨芽細胞様細胞とした。

10%ウシ胎児血清を含む α MEM培地を培養液とし、シャーレ中で骨芽細胞様細胞を37℃、CO₂インキュベータ内で培養した。培養開始から5日後に、骨芽細胞様細胞を0.1%コラゲナーゼ、0.05%トリプシン及び4 mM EDTA・2 Naを含むリン酸緩衝生理食塩水を用いて培養シャーレより剥

離し、 3.73×10^4 細胞 / cm^2 の細胞密度でファルコン 6 ウェルプレートに播種した。以降の培養液としては、10% ウシ胎児血清、5 mM β -グリセロリン酸及び $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ アスコルビン酸を含む α MEM 培地を用いた。

ファルコン 6 ウェルプレートに細胞を播種した 2 日後に、図 13 に示す量のパクリタクセルを培養細胞に添加した。パクリタクセル（日本国、和光純薬製）（ロット番号 J C Q 9 3 5 4）は DMSO に溶解して用いた。1 回目の添加から 2 日目と 5 日目には 1 回目の添加量と同濃度のパクリタクセルを含む培養液で培地交換を行った。対照としては、DMSO（溶媒）のみを細胞に添加した。パクリタクセルの添加開始から 7 日後、細胞層中のアルカリフォスファターゼ（ALP）活性、カルシウム量、及び骨様結節数をそれぞれ Ishizuya et al., *J. Clin. Invest.*, 99, 2961-970, 1997 に記載の方法に準拠して測定した。測定に用いたサンプル数は 6 ($n=6$) である。その測定結果を図 13 及び図 14 に示した。

図 13 と 14 から明らかなように、 $0.3 \sim 3 \text{ ng}/\text{ml}$ の濃度範囲内のパクリタクセルは、細胞層中の ALP 活性、カルシウム量及び骨様結節形成を用量依存的に増加し、骨形成促進効果を示した。

また、培養 7 日目のパクリタクセル無添加群のラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の顕微鏡写真を図 15 に示し、パクリタクセル濃度 $0.3 \text{ ng}/\text{ml}$ 添加群、 $1 \text{ ng}/\text{ml}$ 添加群および

3 ng/ml 添加群のラット頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の顕微鏡写真をそれぞれ図 16～18 に示した。いずれの細胞もリン酸緩衝ホルマリン溶液で固定し、von Kossa 染色 (Mallory, F.B., Pathological Technique, New York, Hafner Publishing Co., 1991, p. 144) を行なった後、40 倍の倍率で検鏡した。図中の黒色部分は von Kossa 染色陽性の石灰化骨様結節であり、パクリタクセル無添加群に比べて、パクリタクセル 0.3～3 ng/ml 添加群では用量依存的に石灰化骨様結節 (黒色部分) が増加することが認められた。

実施例 14

実施例 13 と同様の方法で骨芽細胞様細胞を調製し、 3×10^4 細胞/cm² の細胞密度でファルコン 6 ウェルプレートに播種した。

ファルコン 6 ウェルプレートに細胞を播種した 2 日後に、1 ng/ml、3 ng/ml、10 ng/ml の各濃度で、実施例 13 で用いたのと同じパクリタクセルを培養細胞に添加した。各濃度のパクリタクセル添加群につき、1 時間、3 時間、6 時間、24 時間または 48 時間培養した。パクリタクセルと共に細胞を上記の一定時間培養した後、培養液をパクリタクセルを含まない培養液に交換し、全培養期間が 7 日間となるまで培養した。また、それぞれのパクリタクセル濃度について、7 日間持続的に培養した実験群も設けた。又、対照としては、パクリ

タクセルの溶解に用いたDMSOを用いた。全ての群において、培養開始から2日目と5日目に培養液の交換を行った。薬剤処理開始から7日後に形成された骨様結節数をIshizuya et al., *J. Clin. Invest.*, 1997, 99, 2961-2970に記載の方法に準拠して測定した。各群のサンプル数は3 ($n=3$) とした。その結果を図19に示した。

1 ng/ml または 3 ng/ml のパクリタクセルを添加した群においては、は1時間以上の一過性処理によって骨様結節数が著しく増加し、この結果から、パクリタクセルの骨形成促進効果が認められた。一方、10 ng/ml のパクリタクセルを添加した群においては、6時間以下の一過性処理では骨様結節数の著しい増加が認められたものの、24時間以上の一過性処理では7日間の持続処理の場合と同様に、骨様結節形成は対照である溶媒添加群の骨様結節数以下に抑制された。

実施例 15

ドセタクセルは、Ojima et al., *Tetrahedron Lett.*, 34, 4149-4152, 1993 に記載の方法で合成した。

化合物 AZ 42001、AZ 42002、AZ 42003 及び AZ 42004 は、Ojima et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4, 2631-2934, 1994 に記載の方法で合成した。

化合物 AZ 42007、AZ 42008 及び AZ 42011 は、Ojima et al., *J. Med. Chem.*, 39, 3889-3896, 1996 に記

載の方法で合成した。

化合物 A Z 4 2 0 1 2、A Z 4 2 0 1 4 及び A Z 4 2 0 1 6 は、日本国特表平 8 - 5 0 8 4 6 9 号公報に記載の方法で合成した。

化合物 A Z 4 2 0 0 5、A Z 4 2 0 1 8、A Z 4 2 0 0 9、A Z 4 2 0 1 0、A Z 4 2 0 2 0、A Z 4 2 0 2 1、A Z 4 2 0 2 2、A Z 4 2 0 2 3、A Z 4 2 0 2 4、A Z 4 2 0 2 5、A Z 4 2 0 2 6 及び A Z 4 2 0 2 7 は、それぞれ上記の実施例 1 ~ 1 2 で合成したものをを用いた。

いずれの化合物もジメチルスルホキシドに溶解してタキソイド溶液とした。

下記の表 1 に示した濃度のタキソイド溶液をパクリタクセル溶液の代わりに用いて、実施例 1 3 と同様に骨芽細胞用細胞を処理し、培養 7 日後の骨芽細胞用細胞による骨用結石数を測定した。具体的には、実施例 1 3 と同様に von Kossa 染色に付した細胞を顕微鏡下で観察し、形成された石灰化骨様結節数を各ウェルについて計測した。その結果を表 1 に示した。

例えば、化合物 A Z 4 2 0 0 3 は 0. 3 n g / m l の濃度では骨様結節形成促進作用は観察されなかったが、1 ~ 3 n g / m l の濃度範囲で強い骨様結節形成促進作用が認められた。このように、評価した全てのタキソイドについて、骨様結節形成促進作用が認められた。

100

表1

初代培養ラット骨芽細胞におけるタキソイドの骨様結節形成促進作用

化合物	骨様結節数/ウェル*						
	化合物の濃度 (ng/ml)						
	0**	0.3	1	3	10	30	100
ドセタクセル		10	70	87	0	0	ND
AZ42001		47	84	88	0	0	ND
AZ42002		16	41	87	0	0	ND
AZ42003		5	39	119	0	0	ND
AZ42004		9	69	73	0	0	ND
AZ42005		4	23	67	100	0	ND
AZ42007		15	44	89	81	0	ND
AZ42008		9	28	84	0	0	ND
AZ42009		12	47	96	88	0	ND
AZ42010		2	4	51	113	0	ND
AZ42011	5.3 ± 5.2	3	36	74	57	0	ND
AZ42012		5	8	40	54	0	ND
AZ42014		28	54	75	0	0	ND
AZ42016		0	35	53	73	0	ND
AZ42018		0	45	51	71	0	ND
AZ42020		25	64	97	3	0	ND
AZ42021		5	23	92	10	0	ND
AZ42022		39	67	77	125	3	0
AZ42023		0	12	50	103	0	ND
AZ42024		6	22	23	55	0	ND
AZ42025		0	0	0	39	55	0
AZ42026		7	29	75	0	0	ND
AZ42027		24	54	73	0	0	ND

注： * 対照群 (0 ng/ml) のサンプル数は40 (n=40) であり、実験群のサンプル数は3 (n=3) である。

** 対照群の骨様結節数は全ての実験群に共通である。

ND： 未評価

実施例 16

エーテル麻酔下において、6週齢の雄性SDラットの頭部を切開し、骨膜を剥離した。次いで歯科用ドリルを用いて右側頭頂骨に直径4mmの穴を開口した。

パクリタキセル（日本国、和光純薬社製）をエタノールにて溶解し、そこにフィブリノーゲン液（1mlのPBS（-）あたり100mgのフィブリノーゲン（牛血漿由来）（日本国、和光純薬社製）および0.2mgのアポニチン（日本国、和光純薬社製）を含有）を加えて、パクリタキセル含有量が $1\mu\text{g}/25\mu\text{l}$ または $5\mu\text{g}/25\mu\text{l}$ の5%エタノール含有フィブリノーゲン液を調製し、薬液とした。薬液をラットの頭頂骨開口部にマイクロピペットを用いて $25\mu\text{l}$ 滴下した後、速やかに $10\mu\text{l}$ のスロンビン液（スロンビン100単位と塩化カルシウム5mMを溶解したPBS）をマイクロシリンジを用いて滴下して頭蓋骨の欠損部にフィブリンゲルを形成し、切開した皮膚をミヘル針で閉じ合わせた。尚、対照としては、パクリタキセルを含まない5%エタノール含有フィブリノーゲン液を薬液とし、上記と同様に処置したラットを用いた。各グループのサンプル数は5（ $n=5$ ）とした。

処置から3週後にラットを屠殺して頭蓋冠を取り出し、軟X線写真を撮影した。次に、X線写真について、骨欠損部における新生骨面積の割合（骨新生率）を画像解析により測定

し、対照群に対する実験群のt-検定を行なった。

その結果を下記の表2に示した。

表2の結果から、パクリタクセル5 μ g投与群においては、有意な新生骨面積の増加が見られ、パクリタクセルの優れた骨形成促進活性が認められた。

表2

頭蓋骨欠損ラットにおける骨新生率に対するパクリタクセルの作用

グループ	骨新生率
対照群	3.37 \pm 5.78
パクリタクセル 1 μ g投与群	5.21 \pm 8.08
パクリタクセル 5 μ g投与群	13.03 \pm 8.50*

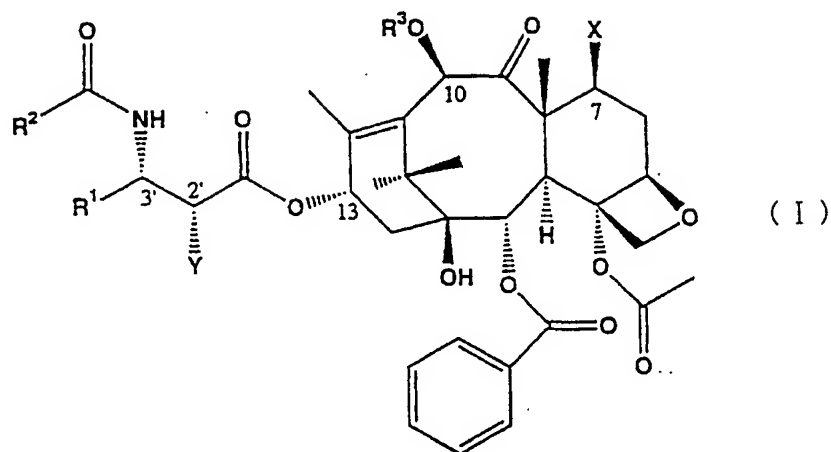
*: 溶媒投与群と比較して $P < 0.05$

産業上の利用可能性

本発明の骨形成促進剤を用いると、骨欠損部における骨形成が著しく促進されるので、骨折の治療、外科的骨削除による骨欠損部の治療、骨疾患の予防などにおいて極めて有効である。

請求の範囲

1. 骨形成に有効な量の、下記式 (I)



(式中、XおよびYは、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基であり；

R^1 は炭素数1～6のアルキル基、炭素数2～6のアルケニル基、炭素数2～6のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 は炭素数1～6のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数1～10のアルコキシ基および炭素数1～6のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり；そして

R^3 は水素原子、あるいは炭素数1～6のアルキル基、

炭素数 1 ～ 6 のアルキル基を有するアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、炭素数 1 ～ 6 のアルコキシカルボニル基および炭素数 1 ～ 3 のアルキル基 2 個を有し、該アルキル基が同一であっても異なっているもよいジアルキルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基を示す)

で表される少なくとも 1 種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤。

2. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) において、

R^1 が、イソブチル基、イソプロピル基、tert-ブチル基、シクロプロピル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-プロペニル基、シス-2-ブテニル基およびフェニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 がペンチル基、2, 2-ジメチルプロピル基、フェニル基、3-フリル基、ベンジルオキシ基、tert-ブトキシ基、tert-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、アダマンチルオキシ基およびtert-ブチルアミノよりなる群から選ばれる基であり；そして

R^3 が水素原子、あるいはメチル基、アセチル基、ベンゾイル基、ブタノイル基、メトキシカルボニル基およびN, N-ジメチルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、請求項1に記載の骨形成促進剤。

3. 該少なくとも1種のタキソイド(I)が、

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が2-メチル-1-プロペニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-イソブチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が2-メチル-1-プロペニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がシス-2-ブテニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がN,N-ジメチルカルバモイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-(N,N-ジメチルカルバモイル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルオキシ基であり、R³がベンゾイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ベンゾイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がブタノイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ブタノイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメトキシカルボニル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メトキシカルボニルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がtert-ブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル

ル基である、3'-デスフェニル-3'-tert-ブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がシクロプロピル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-シクロプロピル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソプロピル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソプロピル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が3-ペンチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-アミルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がイソプロポキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-イソプロポキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がベンジルオキシ基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-ベンジルオキシカルボニル-3'-
デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がアダマンチルオキシ基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-アダマンチルオキシカルボニル-3'-
デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²が2,2-ジメチルプロピル基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-(3,3-ジメチルブタノイル)-3'-
デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がペンチル基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-ヘキサノイル-3'-
デスフェニル-3'-
イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルアミノ基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-tert-ブチルアミノカルボニル-3'-
デスフェニル-3'-
イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基で

あり、 R^2 が3-フリル基であり、 R^3 がアセチル基である、
 -N-ベンゾイル-N-(3-フロイル)-3'-デスフェニ
 ル-3'-イソブチルパクリタクセル；

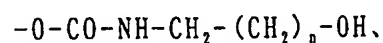
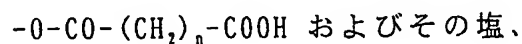
XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がフェニル基であ
 り、 R^2 がフェニル基であり、 R^3 がアセチル基である、パクリ
 タクセル；および

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がフェニル基であ
 り、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、
 ドセタクセル

よりなる群から選ばれることを特徴とする、請求項1または2
 に記載の骨形成促進剤。

4. 該少なくとも1種のタキソイド(I)において、Xおよび
 Yの少なくとも1つとして規定されている上記の生体内で水酸
 基に変換され得る基が、親水性低分子有機基が結合してなるカ
 ルボニルオキシ基であることを特徴とする、請求項1または2
 に記載の骨形成促進剤。

5. 上記の親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキ
 シ基が、下記の基：



$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_mNR^4$ およびその塩、
 $-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_mO$ およびその塩、および
 アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、
 システイン、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、
 イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニ
 ルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプト
 ファン、チロシンおよびバリンよりなる群から選ばれる
 アミノ酸に由来するアシルオキシ基およびその塩

(式中、 R^4 および R^5 は、各々独立に、水素原子または
 炭素数 1 ～ 6 のアルキル基を示し、

n は 1 ～ 4 の整数を示す)

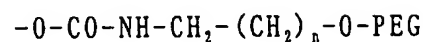
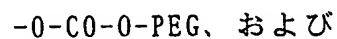
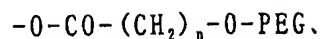
よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、請求項 4 に記載の骨形成促進剤。

6. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) において、X および
 Y の少なくとも 1 つとして規定されている上記の生体内で水酸
 基に変換され得る基が、親水性高分子化合物を直接あるいは低
 分子スペーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基であ
 ることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の骨形成促進剤。

7. 上記の親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペー
 ーを介して結合しているカルボニルオキシ基が、下記の

基：



(式中、 n は 1 ～ 4 の整数を示し、

PEG は 1 価のポリエチレングリコール残基を示す)

よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、請求項 6 に記載の骨形成促進剤。

8. 骨折の治療に用いられることを特徴とする、請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載の骨形成促進剤。

9. 外科的骨削除による骨欠損部の治療に用いられることを特徴とする、請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載の骨形成促進剤。

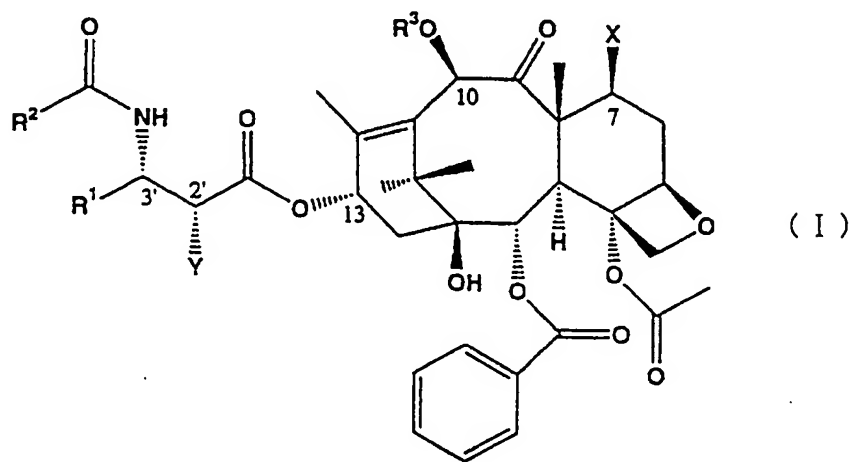
10. 該外科的骨削除が、偽関節症の治療、脊椎固定術、人工関節置換術、骨切り術、骨延長術、骨補填術、歯科インプラント移植術、歯周病の治療のいずれかを目的として行なわれるものであることを特徴とする、請求項 9 に記載の骨形成促進剤。

11. 局所投与用製剤であることを特徴とする、請求項 1 ～ 10 のいずれかに記載の骨形成促進剤。

12. 注射剤、固形製剤、懸濁剤または軟膏剤であることを特徴とする、請求項11に記載の骨形成促進剤。

13. 成人の患者に対する1回の投与あたりの投与量が、体重50kgあたり、該少なくとも1種のタキソイドの量として1ng～50mgとなるよう処方されていることを特徴とする、請求項1～12のいずれかに記載の骨形成促進剤。

14. 下記式(I)



(式中、XおよびYは水酸基であり；

R^1 はイソブチル基であり；

R^2 はtert-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、ベンジルオキシ基、アダマンチルオキシ基、2,2-ジメチルプロピル基、ペンチル基、tert-ブチルアミ

114

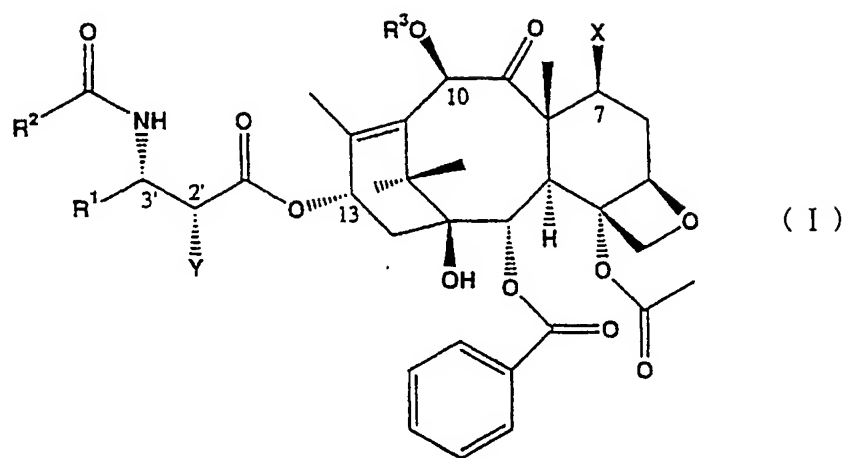
ノ基及び3-フリル基よりなる群から選ばれる基であ

り；

R^3 はアセチル基である)

で表されるタキソイド。

15. 下記式 (I)



(式中、XおよびYは水酸基であり；

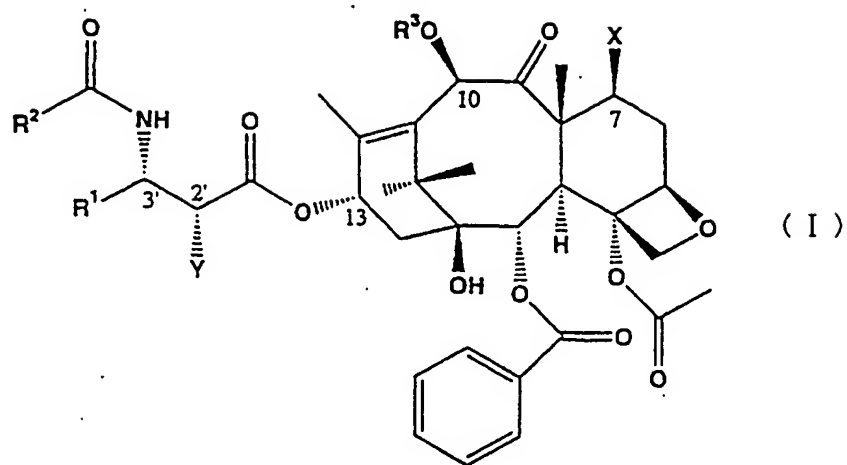
R^1 はシス-2-ブテニル基または3-ペンチル基で
あり；

R^2 はtert-ブトキシ基であり；

R^3 はアセチル基である)

で表されるタキソイド。

16. 下記式 (1)



(式中、XおよびYは水酸基であり；

R¹はイソブチル基であり；

R²はtert-ブトキシ基であり；

R³はベンゾイル基またはブタノイル基である)

で表されるタキソイド。

17. 骨形成に有効な量の、請求項14に記載の少なくとも1種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤
を含有してなる骨形成促進剤。

18. 骨形成に有効な量の、請求項15に記載の少なくとも1種のタキソイド、および

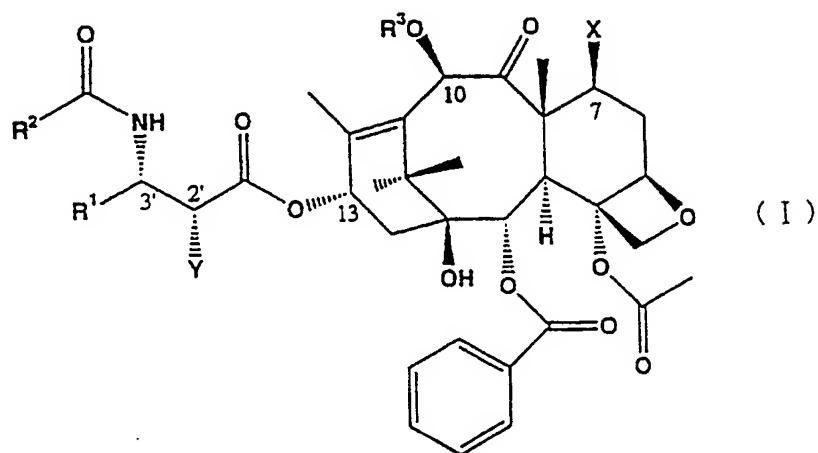
薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤

を含有してなる骨形成促進剤。

19. 骨形成に有効な量の、請求項16に記載の少なくとも1種のタキソイド、および

薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤
を含有してなる骨形成促進剤。

20. 下記式 (I)



(式中、XおよびYは、各々独立に、水酸基または生体内で水酸基に変換され得る基であり；

R¹は炭素数1～6のアルキル基、炭素数2～6のアルケニル基、炭素数2～6のアルキニル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基およびチエニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 は炭素数 1 ～ 6 のアルキル基、フェニル基、ナフチル基、フリル基、チエニル基、炭素数 1 ～ 10 のアルキル基を有するアルコキシ基および炭素数 1 ～ 6 のアルキルアミノ基よりなる群から選ばれる基であり；そして

R^3 は水素原子、あるいは炭素数 1 ～ 6 のアルキル基、炭素数 1 ～ 6 のアルキルカルボニル基、ベンゾイル基、ナフトイル基、フロイル基、テノイル基、炭素数 1 ～ 6 のアルコキシカルボニル基および炭素数 1 ～ 3 のアルキル基 2 個を有し、該アルキル基が同一であっても異なってもよいジアルキルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基を示す)

で表される少なくとも 1 種のタキソイドの骨形成に有効な量を、骨不全を有する患者に投与することを含む、骨形成を促進する方法。

21. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) を、該少なくとも 1 種のタキソイド (I) および薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含有してなる骨形成促進剤の形で投与することを特徴とする、請求項 20 に記載の方法。

22. 該少なくとも 1 種のタキソイド (I) において、

R^1 が、イソブチル基、イソプロピル基、tert-ブチル基、シクロプロピル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-ブ

ロペニル基、シス-2-ブテニル基およびフェニル基よりなる群から選ばれる基であり；

R^2 がペンチル基、2,2-ジメチルプロピル基、フェニル基、3-フリル基、ベンジルオキシ基、tert-ブトキシ基、tert-アミルオキシ基、イソプロポキシ基、アダマンチルオキシ基およびtert-ブチルアミノよりなる群から選ばれる基であり；そして

R^3 が水素原子、あるいはメチル基、アセチル基、ベンゾイル基、ブタノイル基、メトキシカルボニル基およびN,N-ジメチルカルバモイル基よりなる群から選ばれる基であることを特徴とする、請求項20または21に記載の方法。

23. 該少なくとも1種のタキソイド(I)が、

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が2-メチル-1-プロペニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基で

あり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-イソブチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 が2-メチル-1-プロペニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 が水素原子である、3'-デスフェニル-3'-(2-メチル-1-プロペニル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がシス-2-ブテニル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(シス-2-ブテニル)-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がN,N-ジメチルカルバモイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-(N,N-ジメチルカルバモイル)ドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブトキシ基であり、 R^3 がメチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、 R^1 がイソブチル基であり、 R^2 がtert-ブチルオキシ基であり、 R^3 がベンゾイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ベンゾイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がブタノイル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-ブタノイルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がメトキシカルボニル基である、3'-デスフェニル-3'-イソブチル-10-O-メトキシカルボニルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がtert-ブチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-tert-ブチル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がシクロプロピル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-シクロプロピル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソプロピル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-イソプロピル-10-O-アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹が3-ペンチル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³がアセチル基である、3'-デスフェニル-3'-(3-ペンチル)-10

－O－アセチルドセタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-アミルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-tert-アミルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がイソプロポキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-イソプロポキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がベンジルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-ベンジルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がアダマンチルオキシ基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-アダマンチルオキシカルボニル-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²が2,2-ジメチルプロピル基であり、R³がアセチル基である、デ-N-ベンゾイル-N-(3,3-ジメチルブタノイル)-3'-デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

1 2 2

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がペンチル基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-ヘキサノイル-3'-デスフェニル-3'-
イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²がtert-ブチルアミノ基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-tert-ブチルアミノカルボニル-3'-
デスフェニル-3'-イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がイソブチル基であり、R²が3-フリル基であり、R³がアセチル基である、
デ-N-ベンゾイル-N-(3-フロイル)-3'-デスフェニル-3'-
イソブチルパクリタクセル；

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がフェニル基であり、R²がフェニル基であり、R³がアセチル基である、
パクリタクセル；および

XおよびYがいずれも水酸基であり、R¹がフェニル基であり、R²がtert-ブトキシ基であり、R³が水素原子である、
ドセタクセル

よりなる群から選ばれることを特徴とする、請求項20～23のいずれかに記載の方法。

24. 該少なくとも1種のタキソイド(I)において、Xおよ

1 2 3

び Y の少なくとも 1 つとして規定されている上記の生体内で水酸基に変換され得る基が、親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基であることを特徴とする、請求項 20 ~ 22 のいずれかに記載の方法。

25. 上記の親水性低分子有機基が結合してなるカルボニルオキシ基が、下記の基：

$-O-CO-(CH_2)_n-NR^4R^5$ およびその塩、

$-O-CO-(CH_2)_n-COOH$ およびその塩、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-OH$ 、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2NR^4$ およびその塩、

$-O-CO-NH-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2CH_2)_2O$ およびその塩、およびアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンよりなる群から選ばれるアミノ酸に由来するアシルオキシ基およびその塩

(式中、 R^4 および R^5 は、各々独立に、水素原子または炭素数 1 ~ 6 のアルキル基を示し、

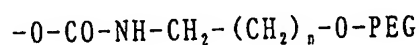
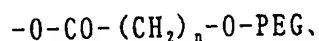
n は 1 ~ 4 の整数を示す)

よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、請求項 24 に記載の方法。

26. 該少なくとも1種のタキソイド(I)において、XおよびYの少なくとも1つとして規定されている上記の生体内で水酸基に変換され得る基が、親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基であることを特徴とする、請求項20～22のいずれかに記載の方法。

27. 上記の親水性高分子化合物を直接あるいは低分子スペーサーを介して結合しているカルボニルオキシ基が、下記の基：



(式中、nは1～4の整数を示し、

PEGは1価のポリエチレングリコール残基を示す)

よりなる群から選ばれる基である

ことを特徴とする、請求項26に記載の骨形成促進剤。

28. 骨折の治療を目的として行われることを特徴とする、請求項20～27のいずれかに記載の方法。

29. 外科的骨削除による骨欠損部の治療を目的として行われることを特徴とする、請求項20～27のいずれかに記載の方

法。

30. 該外科的骨削除が、偽関節症の治療、脊椎固定術、人工関節置換術、骨切り術、骨延長術、骨補填術、歯科インプラント移植術、歯周病の治療のいずれかを目的として行なわれるものであることを特徴とする、請求項29に記載の方法。

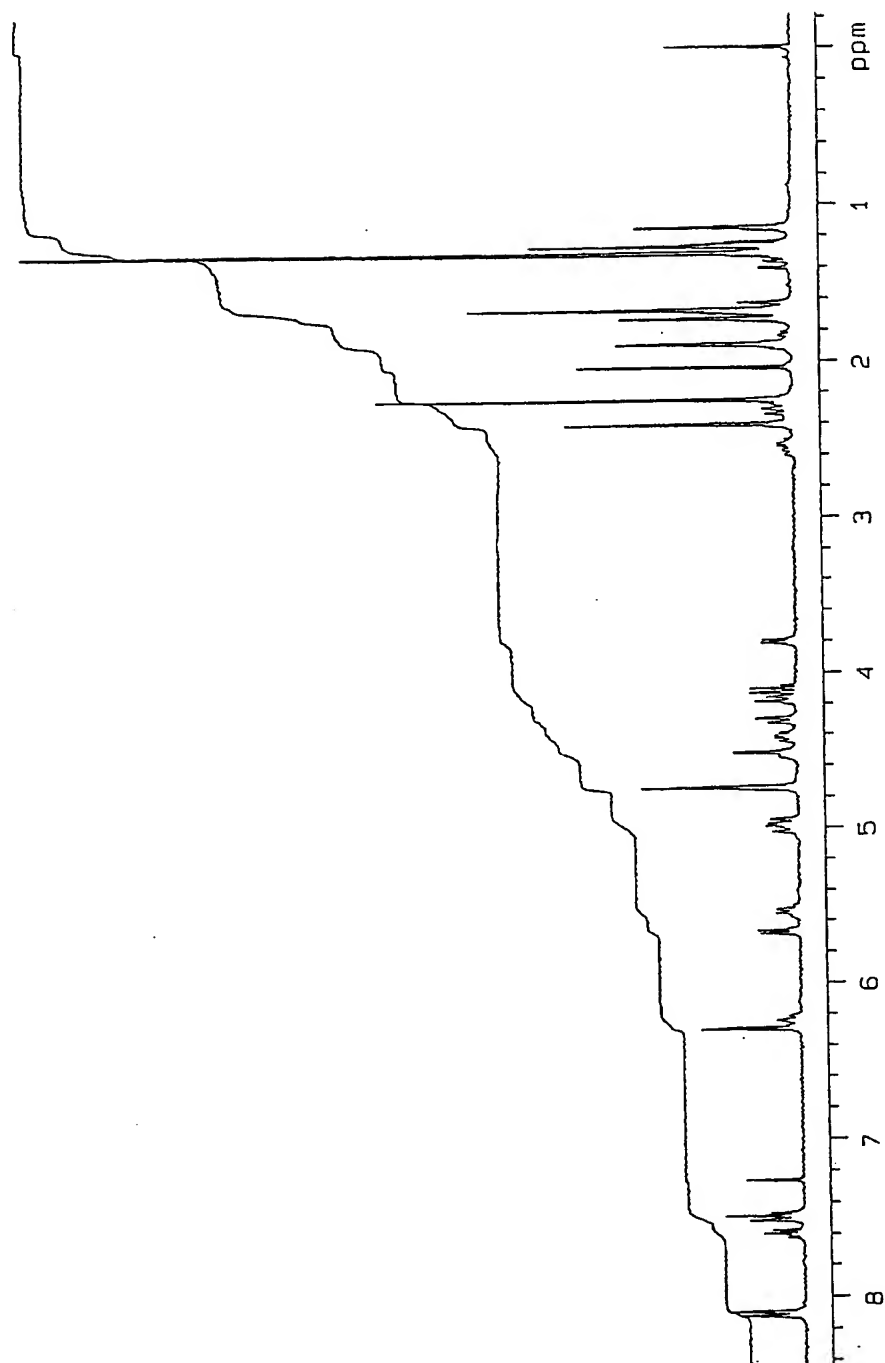
31. 該骨形成促進剤が局所投与用製剤であることを特徴とする、請求項20～30のいずれかに記載の方法。

32. 該骨形成促進剤が注射剤、固形製剤、懸濁剤または軟膏剤であることを特徴とする、請求項31に記載の方法。

33. 成人の患者に対し、該骨形成促進剤を、1回の投与あたり、体重50kgあたり該少なくとも1種のタキソイドの量として1ng～5.0mg投与することを特徴とする、請求項20～32のいずれかに記載の方法。

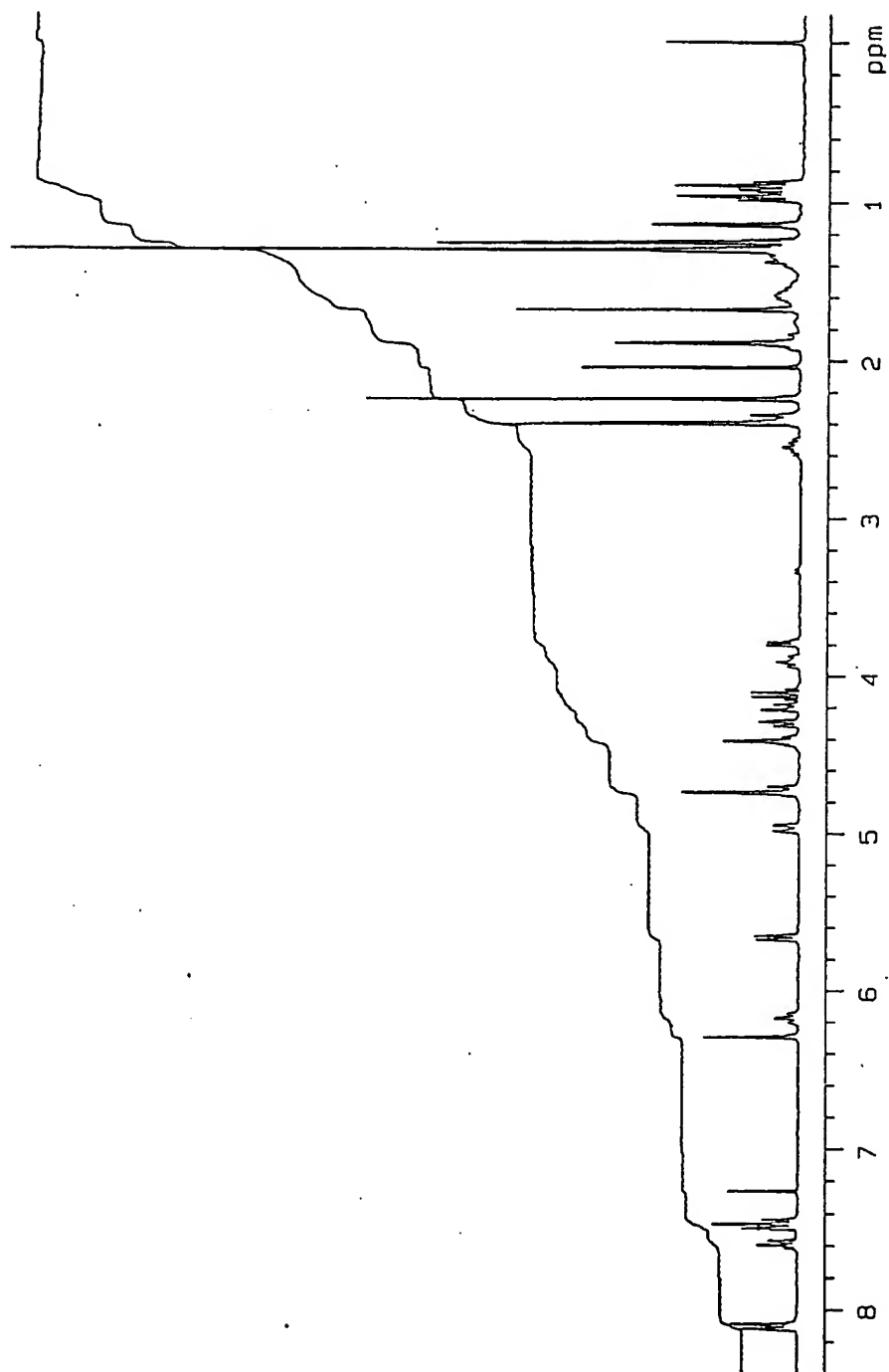
1/19

Fig. 1



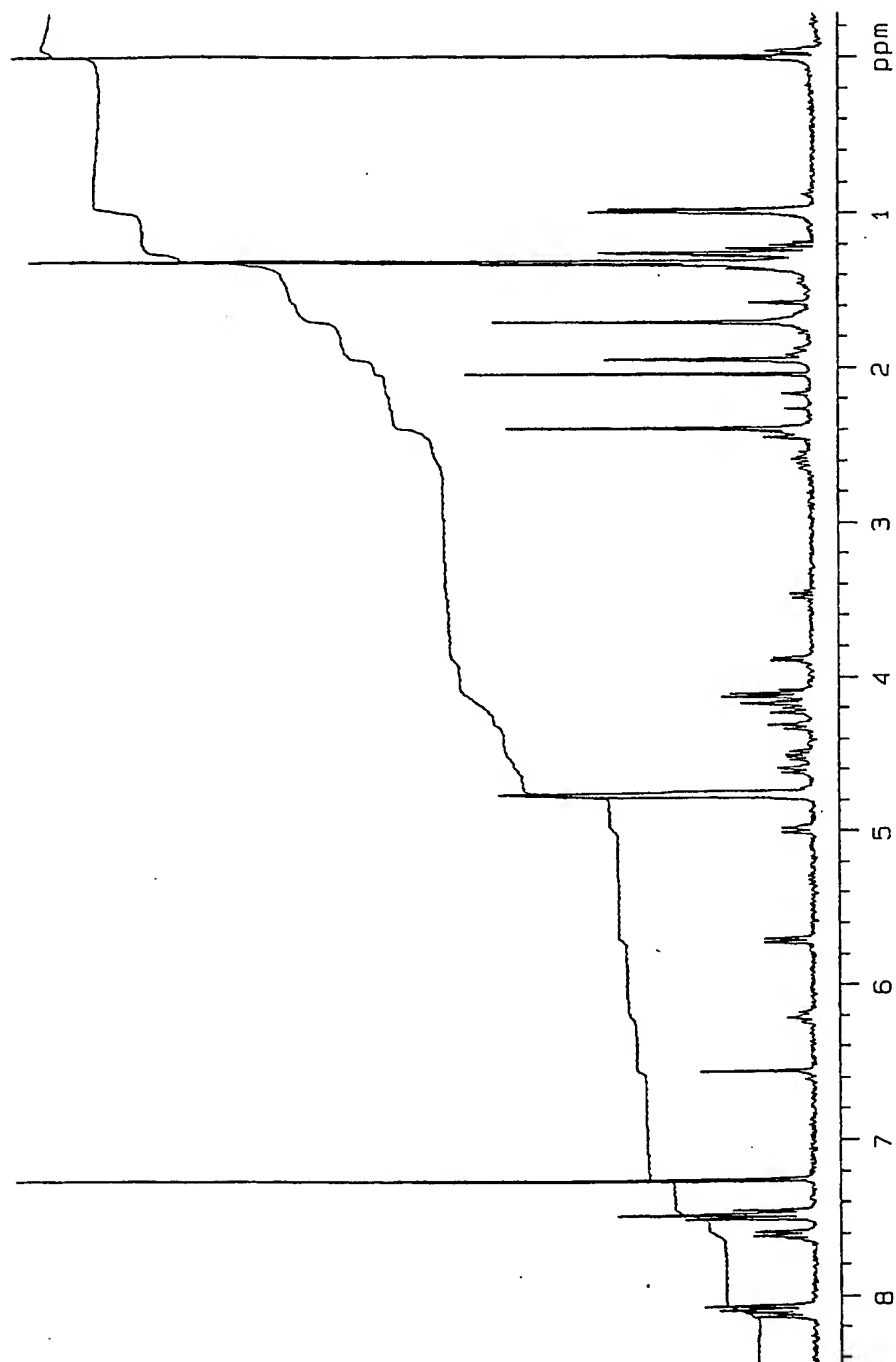
2/19

Fig. 2



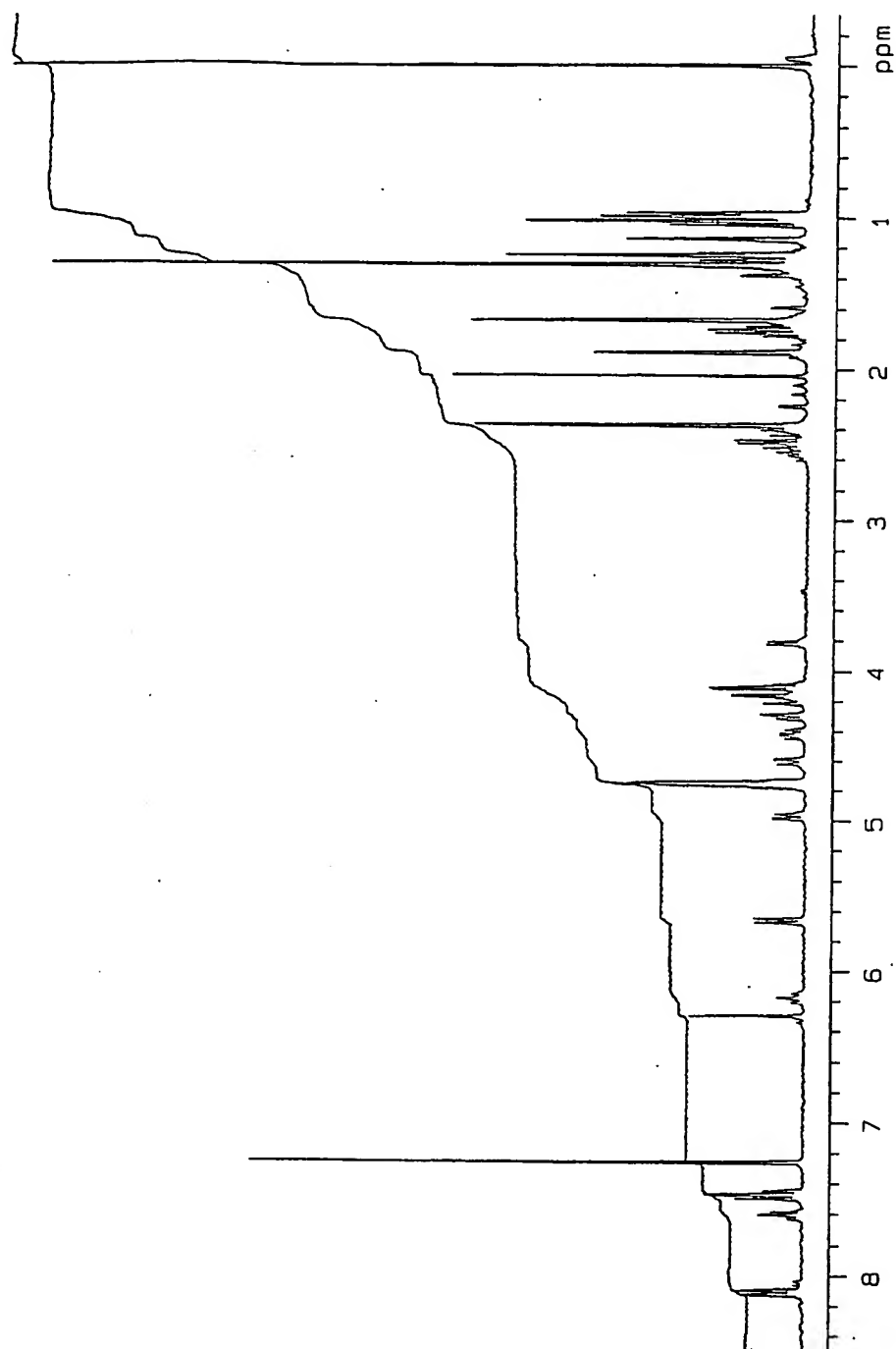
3/19

Fig. 3



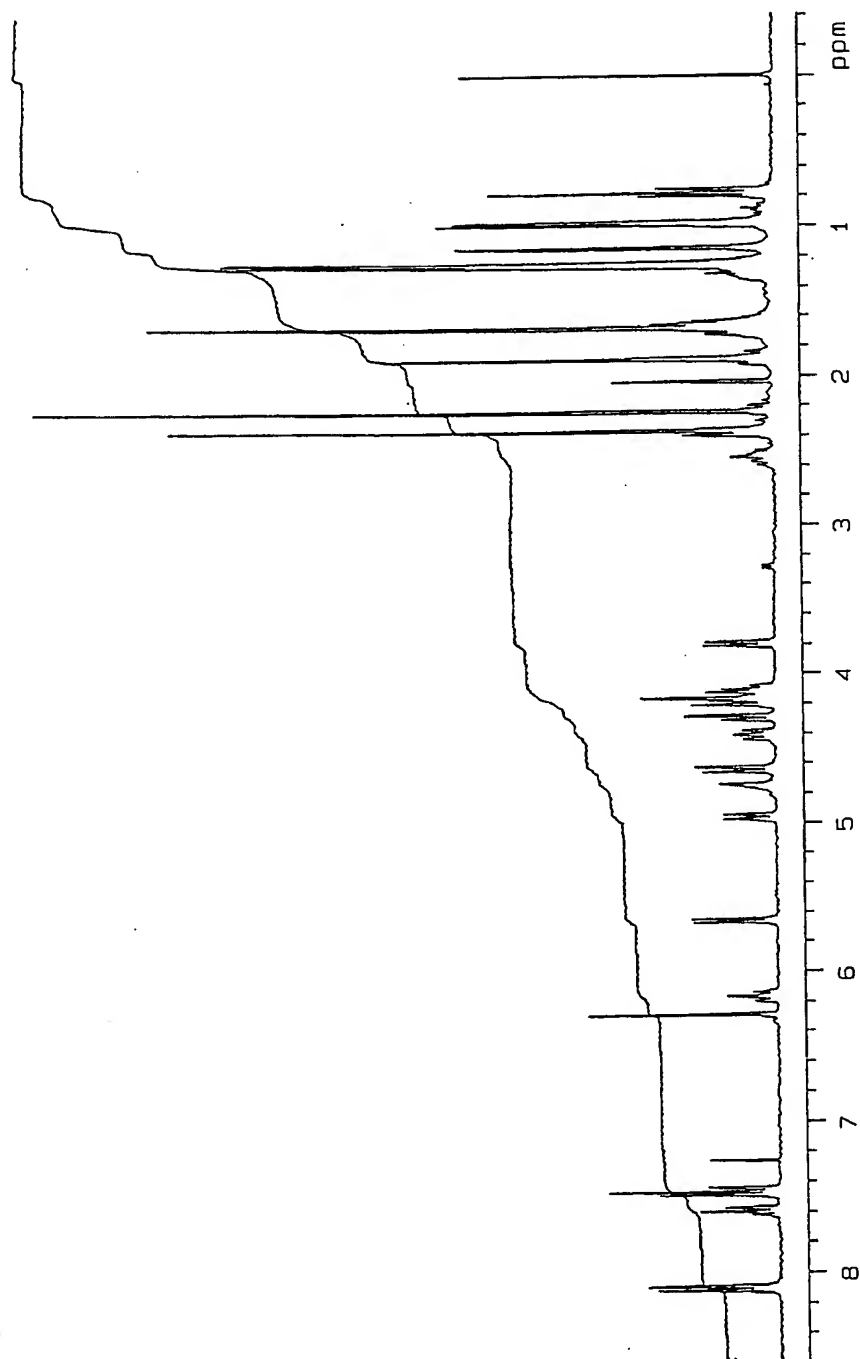
4/19

Fig. 4



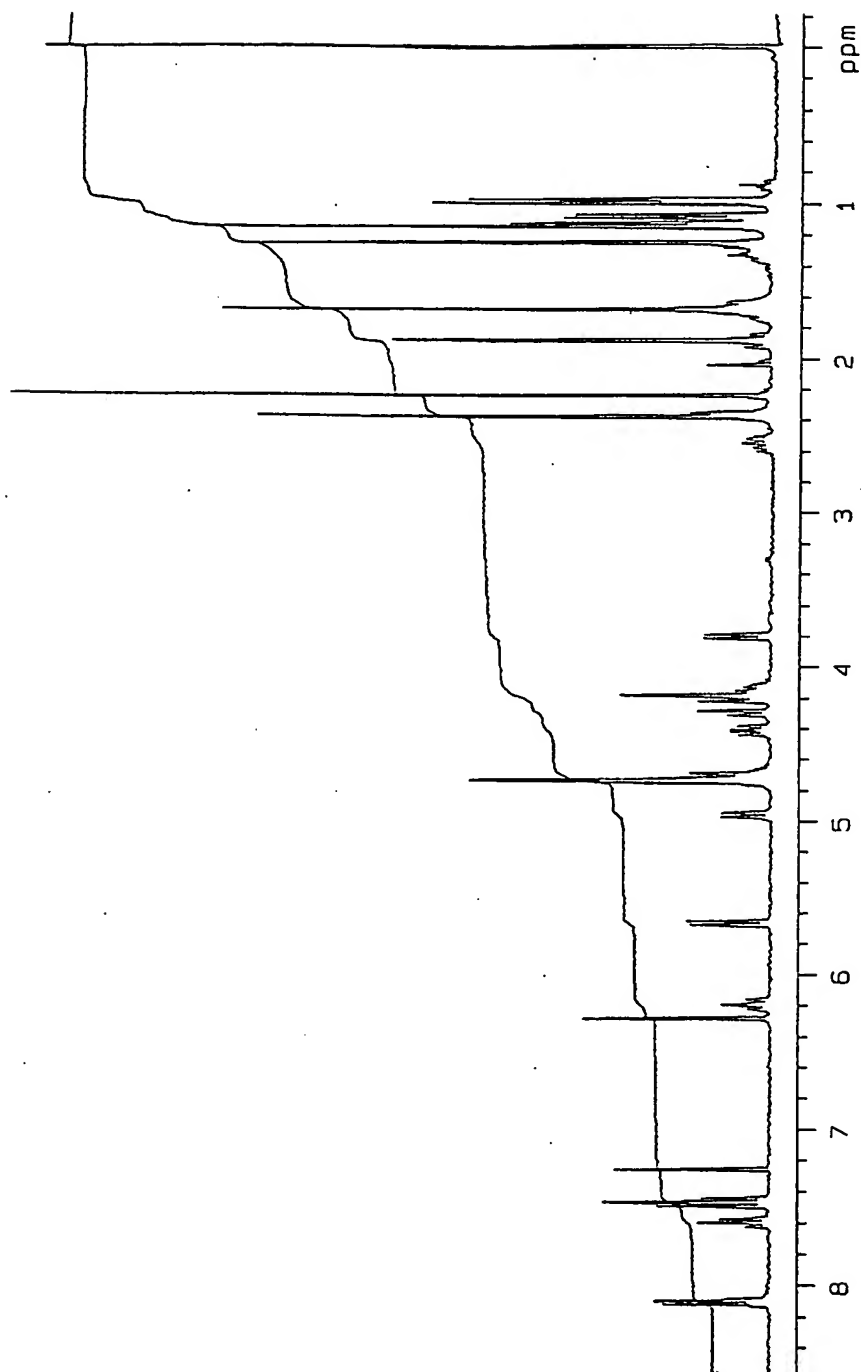
5/19

Fig. 5



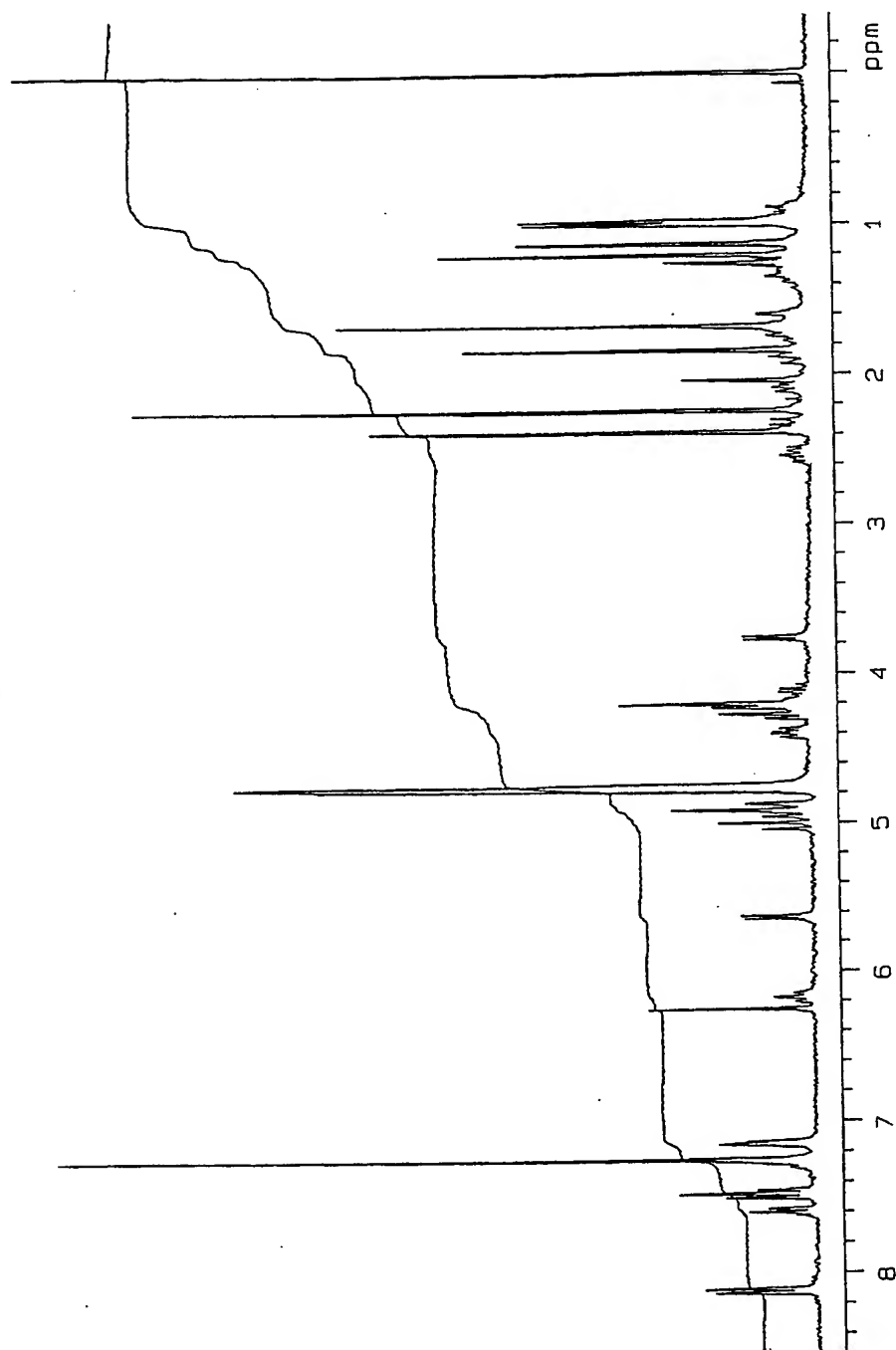
6/19

Fig. 6



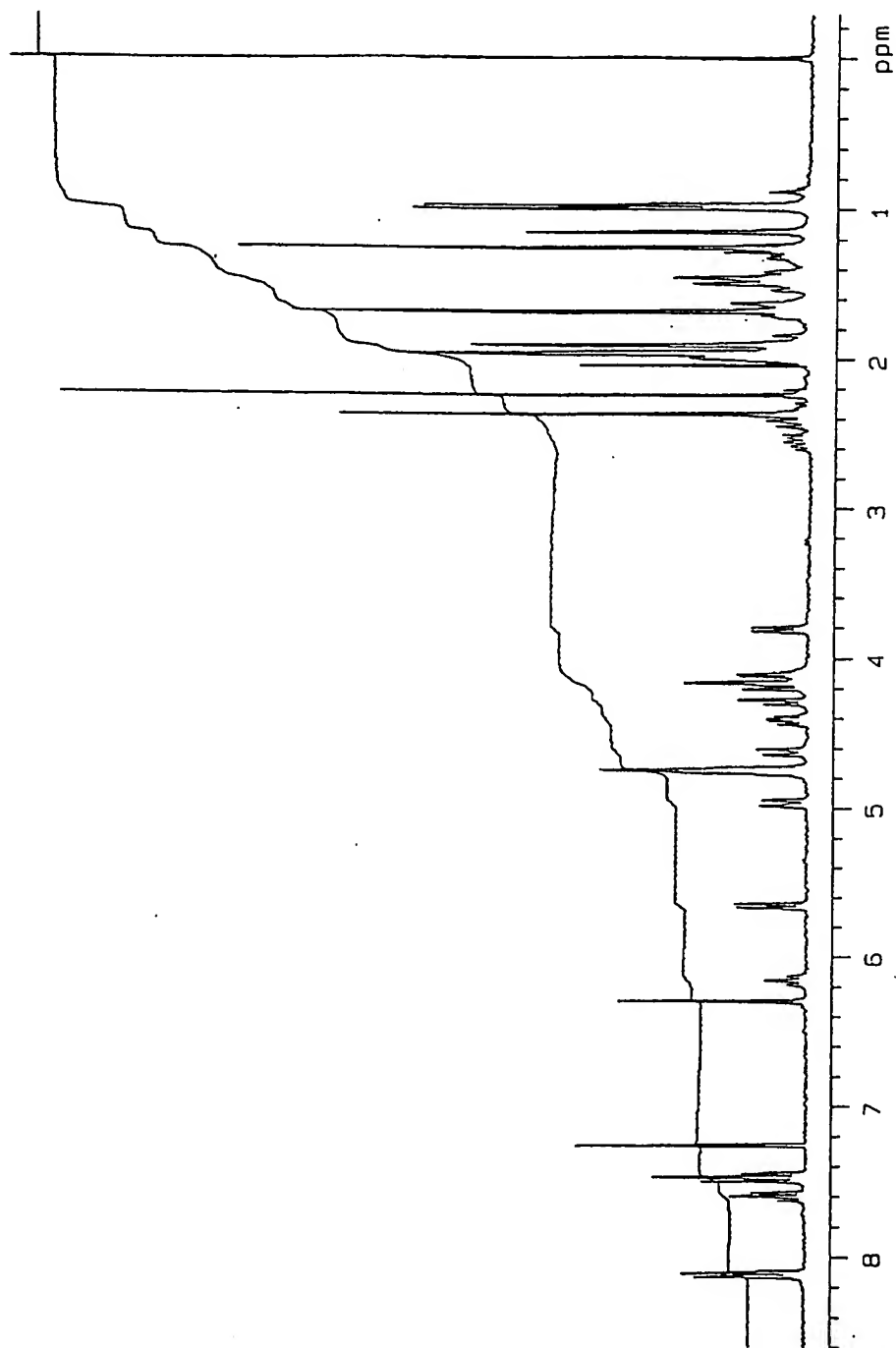
7/19

Fig. 7



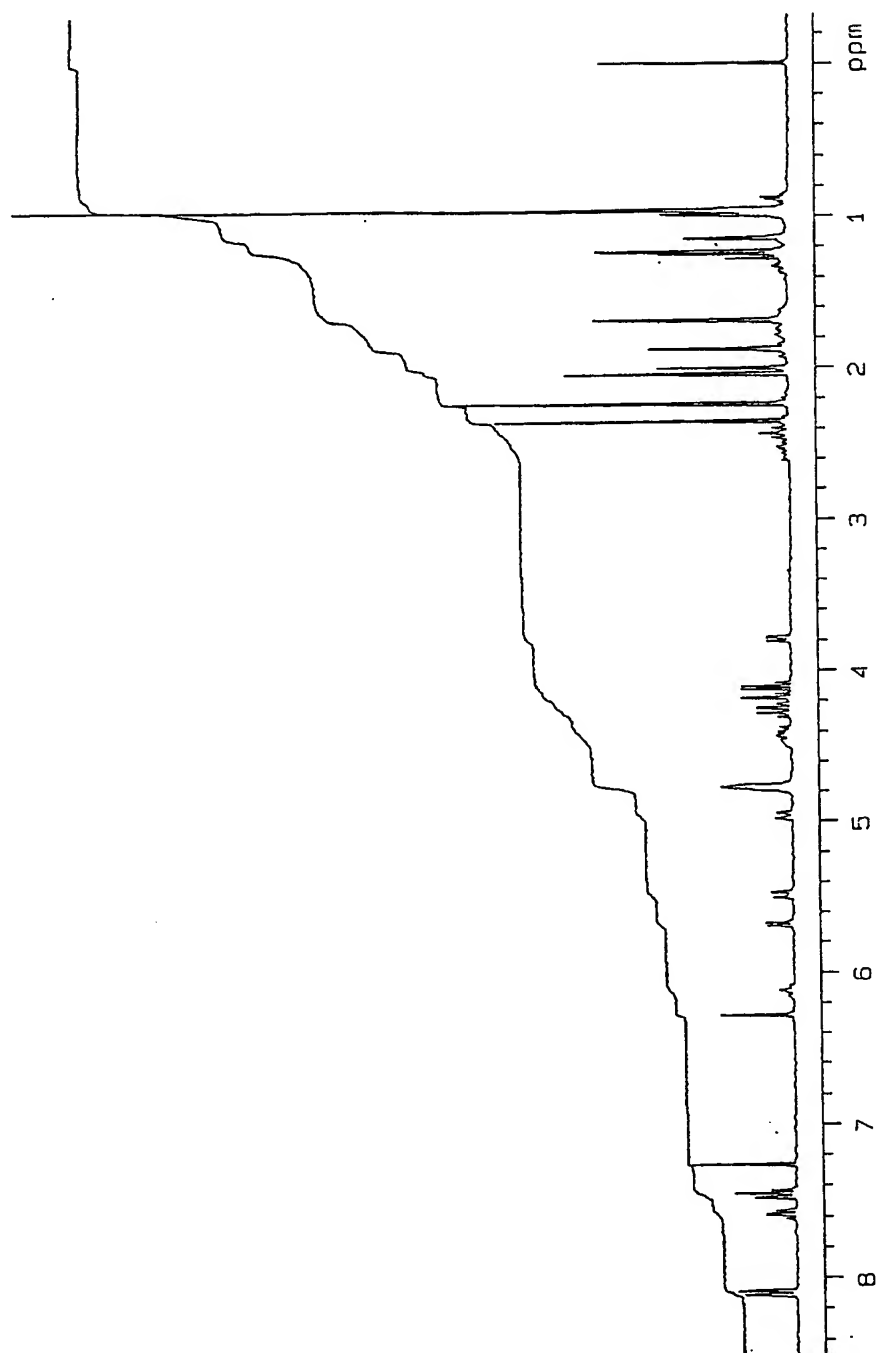
8/19

Fig. 8



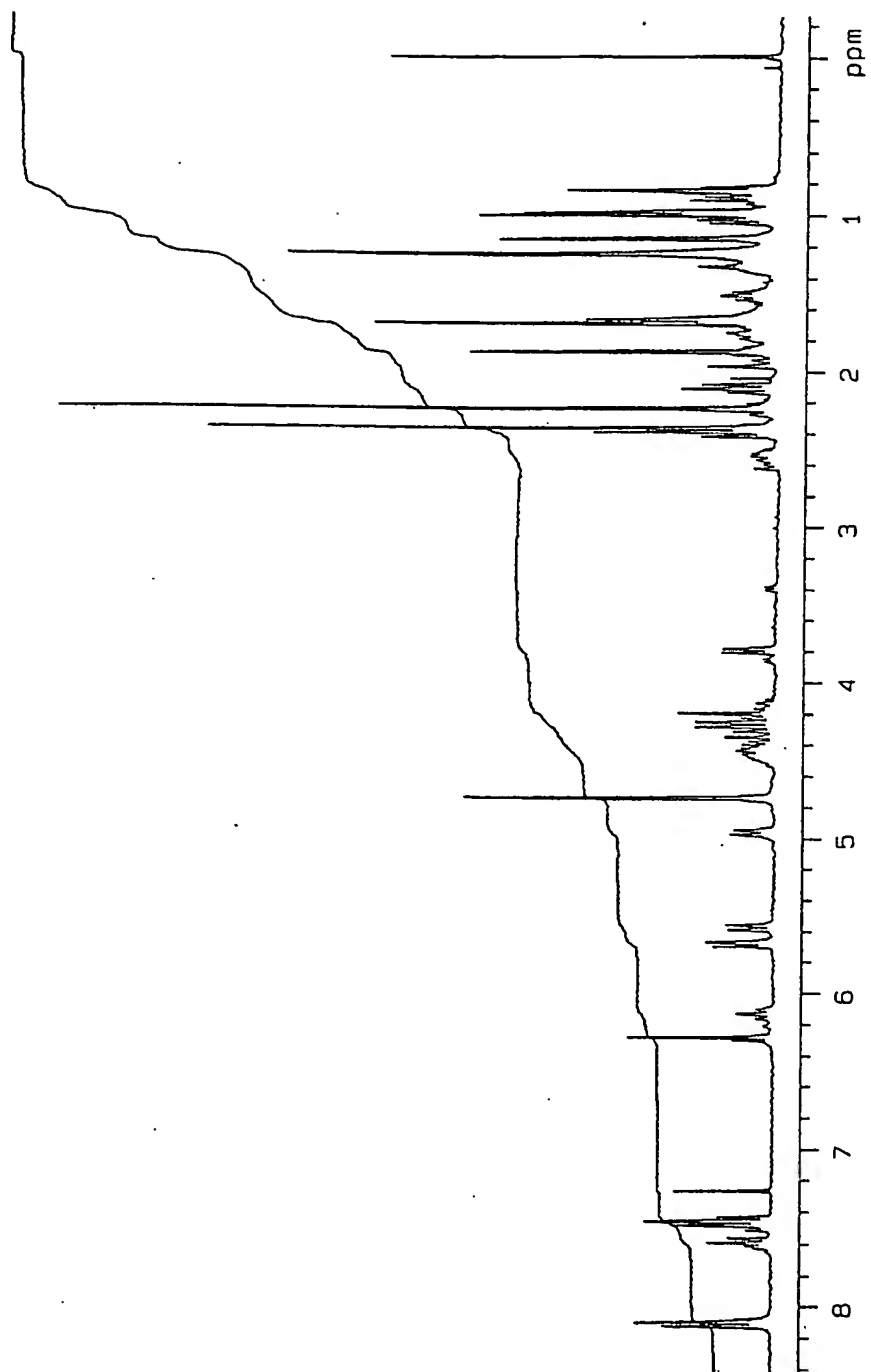
9/19

Fig. 9



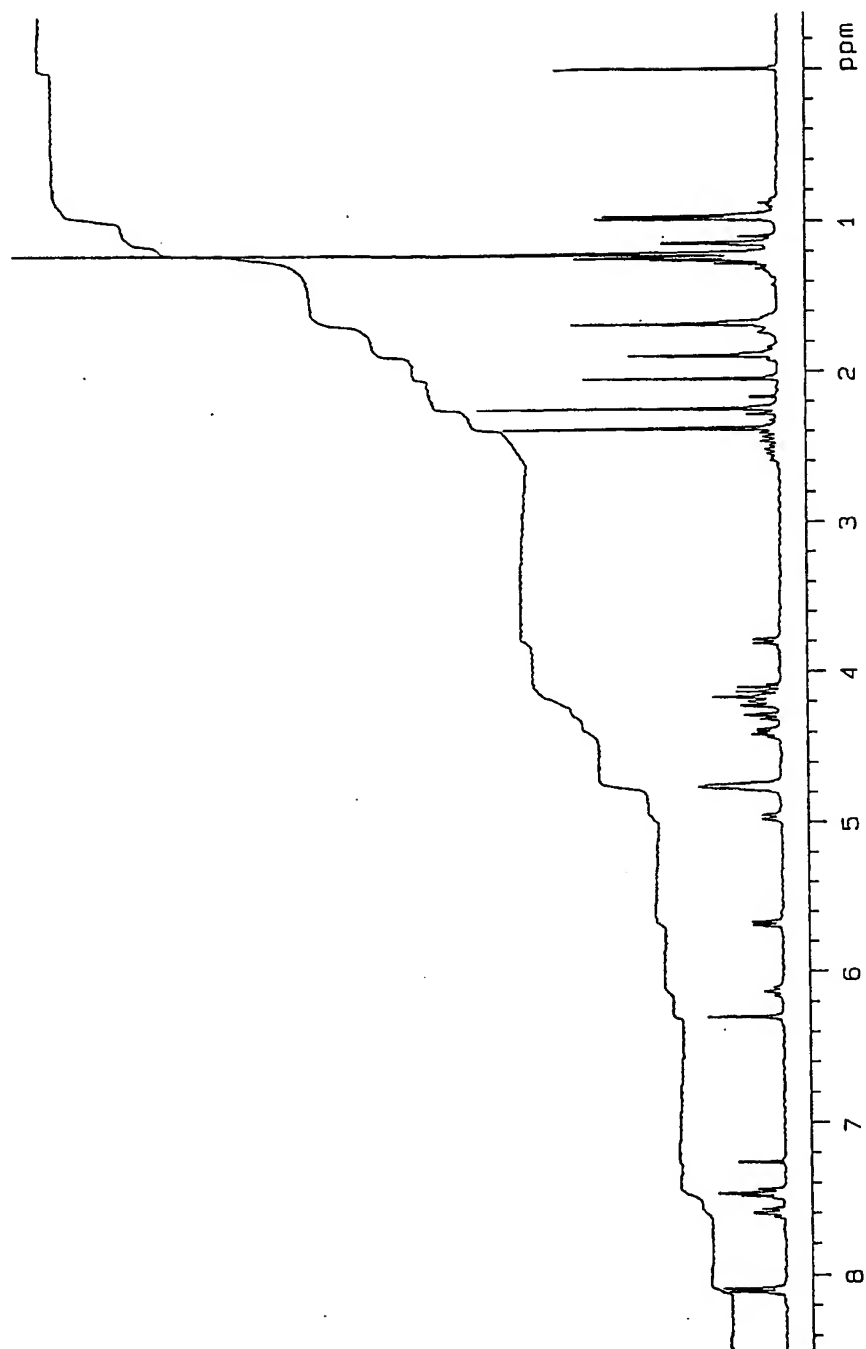
10/19

Fig. 10



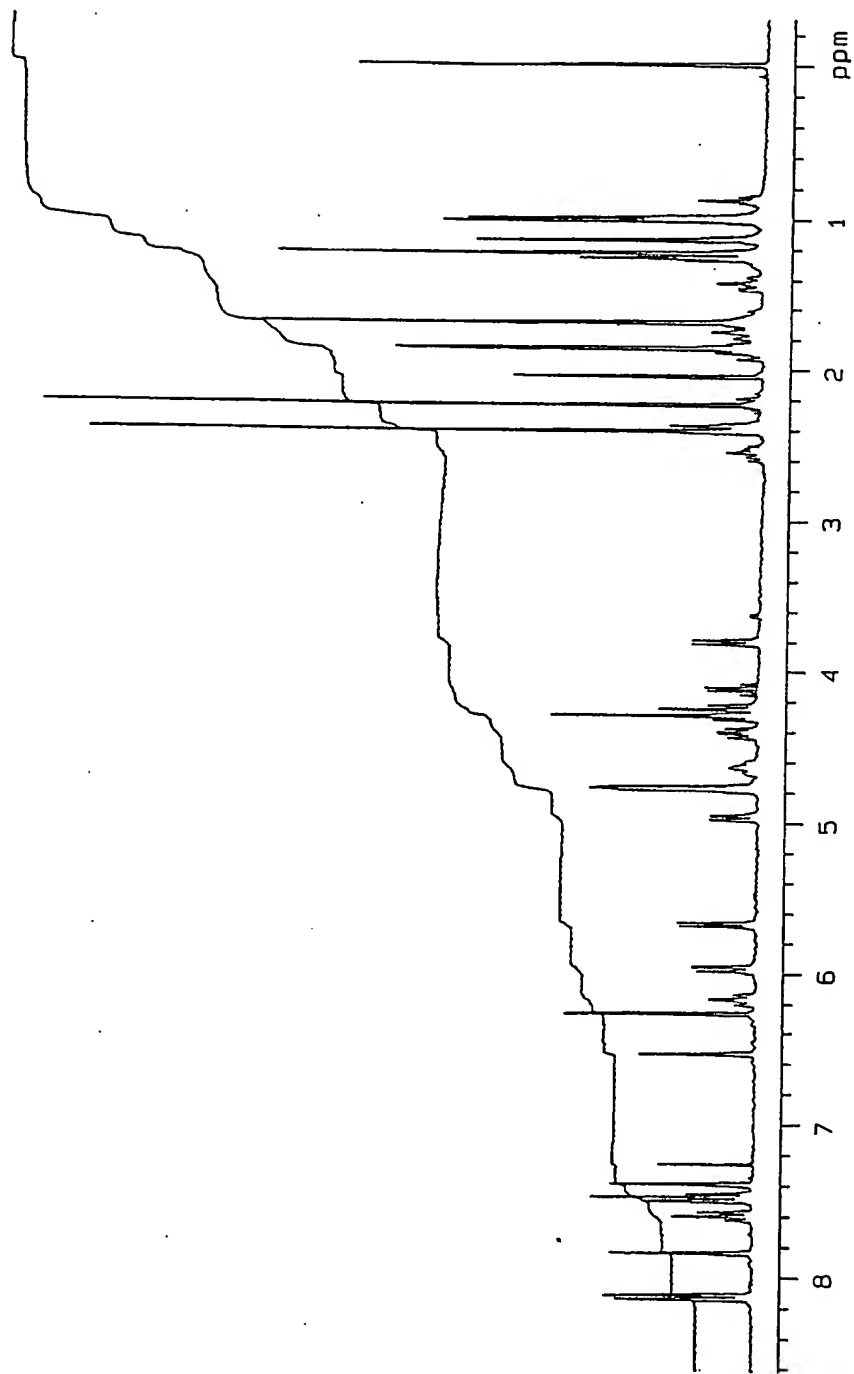
11/19

Fig. 11



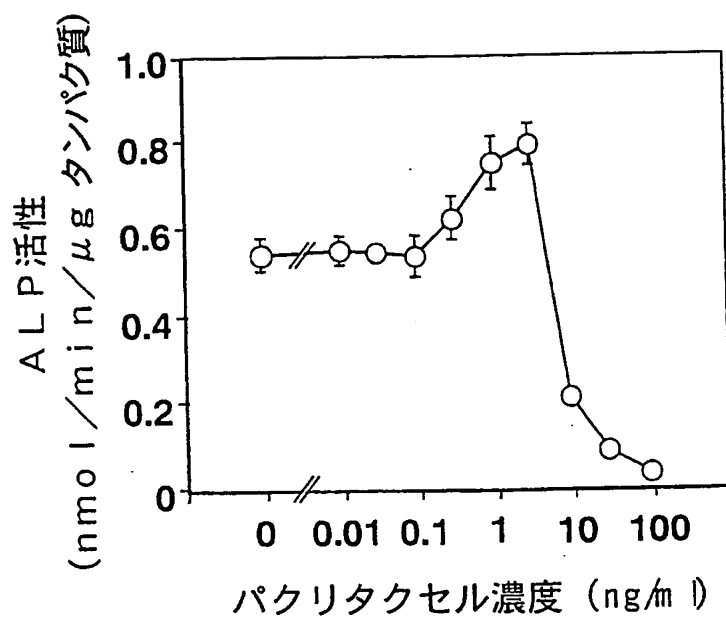
12/19

Fig. 12



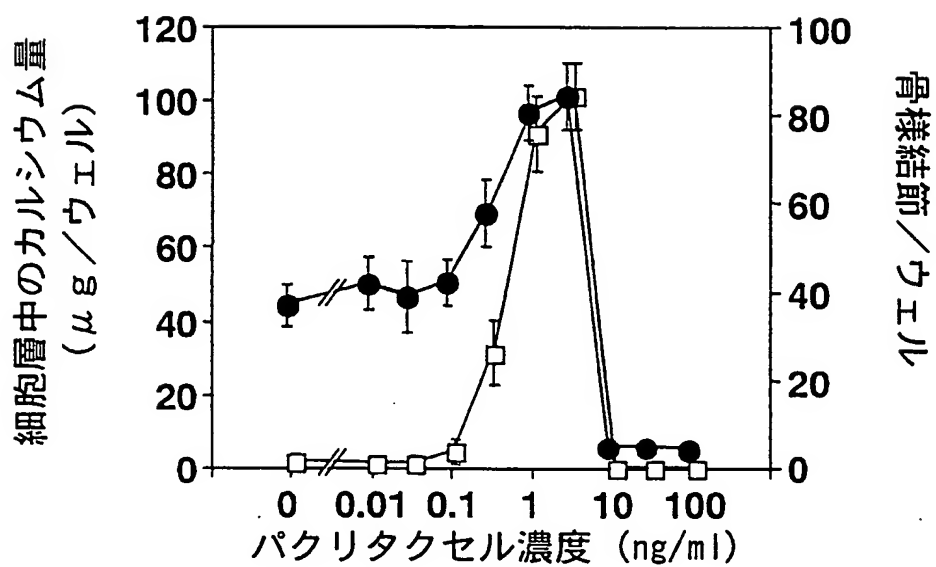
13/19

Fig. 13



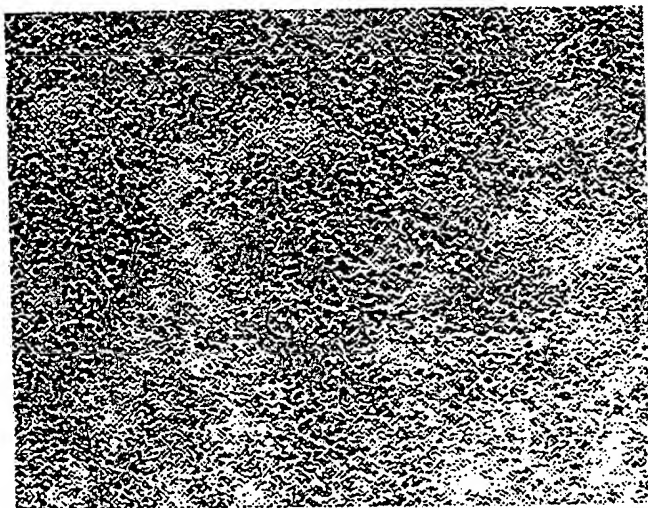
14/19

Fig. 14



15/19

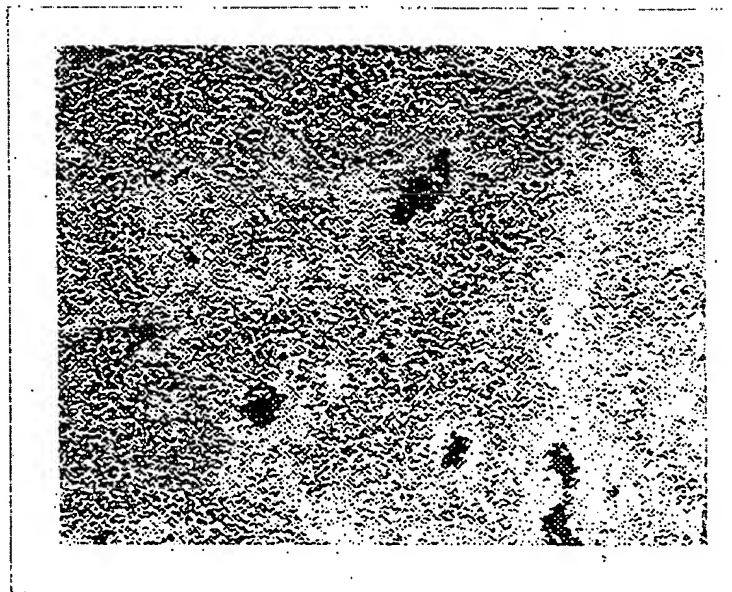
Fig. 15



BEST AVAILABLE COPY

16/19

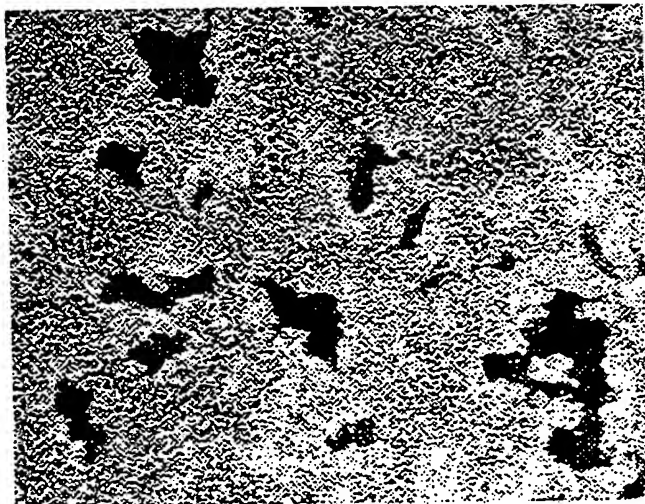
Fig. 16



BEST AVAILABLE COPY

17/19

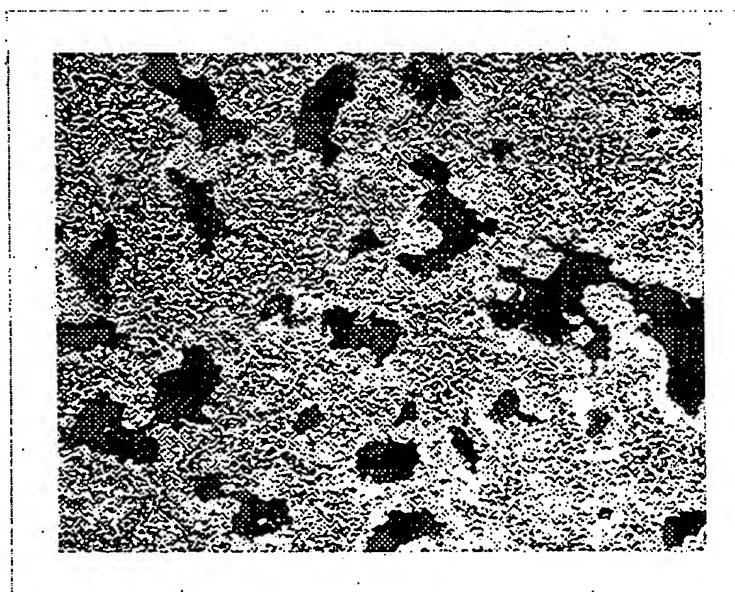
Fig. 17



BEST AVAILABLE COPY

18/19

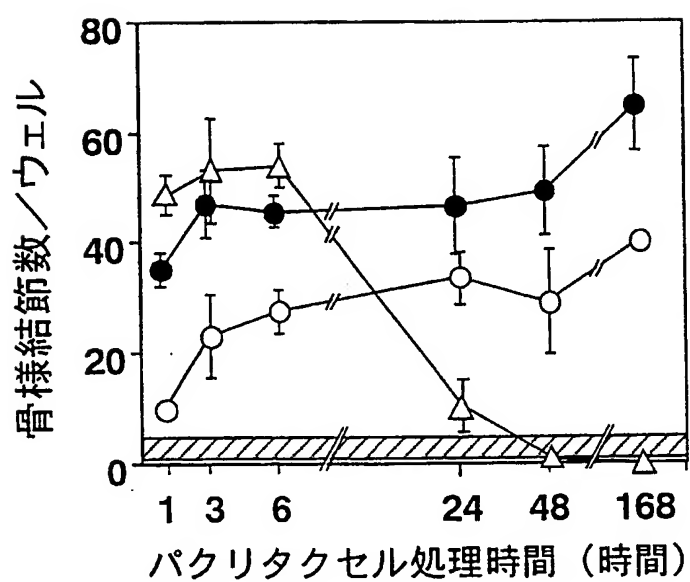
Fig. 18



BEST AVAILABLE COPY

19/19

Fig. 19



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/01334

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07D305/14, A61K31/337, A61P19/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07D305/14, A61K31/337, A61P19/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HALL, T. J.; JEKER, H.; SCHAEUBLIN Taxol Inhibits Osteoclastic Bone Resorption. Calcif. Tissue Int., Vol. 57, No. 6, p. 463-465 (1995)	1-13, 17-19
A	WO, 96/17633, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS), 13 June, 1996 (13.06.96) & JP, 10-510183, A & EP, 796115, A1	1-13, 17-19
A	WO, 97/43291, A1 (INDENA S.A.P.), 20 November, 1997 (20.11.97) & EP, 901492, A1 & US, 5955489, A	14-16
A	WO, 97/32578, A1 (RESEARCH FOUNDATION OF STATE UNIVERSITY OF NEW YORK), 12 September, 1997 (12.09.97) & AU, 9721374, A	14-16
A	WO, 96/13495, A1 (RESEARCH FOUNDATION OF STATE UNIVERSITY OF NEW YORK), 09 May, 1996 (09.05.96) & JP, 10-508022, A & EP, 788493, A1	14-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
26 May, 2000 (26.05.00)Date of mailing of the international search report
06.06.00Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/01334

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WILLHITE, L. OSTEOPOROSIS INWOMEN: PREVENTION AND TREATMENT. J.Am.Pharm.Assoc., Vol.38, No.5, p.614-624 (1998)	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/01334

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 20-26,28-33
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Corresponds to a method for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 27
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/01334

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. C07D305/14, A61K31/337, A61P19/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. C07D305/14, A61K31/337, A61P19/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	HALL, T. J. ; JEKER, H. ; SCHAUERBLIN Taxol Inhibits Osteoclastic Bone Resorption. Calcif. Tissue Int., Vol. 57, No. 6, p. 463-465 (1995)	1-13, 17-19
A	WO, 96/17633, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS) 13. 6月. 1996 (13. 06. 96) &JP, 10-510183, A &EP, 796115, A1	1-13, 17-19

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

- * 引用文献のカテゴリー
- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの
- 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献
- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
26. 05. 00

国際調査報告の発送日
06.06.00

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
齋藤 恵



4 P 9164

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 97/43291, A1 (INDENA S. A. P.) 20. 11月. 1997 (20. 11. 97) &EP, 901492, A1 &US, 5955489, A	14-16
A	WO, 97/32578, A1 (RESEARCH FOUNDATION OF STATE UNIVERSITY OF N EW YORK) 12. 9月. 1997 (12. 09. 97) &AU, 9721374, A	14-16
A	WO, 96/13495, A1 (RESEARCH FOUNDATION OF STATE UNIVERSITY OF N EW YORK) 9. 5月. 1996 (09. 05. 96) &JP, 10-508022, A &EP, 788493, A1	14-16
A	WILLHITE, L. OSTEOPOROSIS INWOMEN: PREVENTION AND TREATMENT. J. Am. Pharm. Assoc., Vol. 38, No. 5, p. 614-624 (1998)	1-19

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見(第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 20-26、28-33 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
人の身体の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☒ 請求の範囲 27 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見(第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。